



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

**Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných
studentů středních škol ve vědecko výzkumné práci v oblasti
přírodních věd
reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040**

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta

VYBRANÉ KAPITOLY Z CHEMIE (nejen pro střední školy)

Ludmila Zajoncová a kolektiv



OLOMOUC 2012

Oponenti: RNDr. Jan Jelínek
Mgr. Marek Pavlíček, Ph.D.

Publikace byla připravena v rámci projektu OPVK „Přírodovědec – Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědecko výzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040. Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

1. vydání

© Ludmila Zajoncová a kolektiv, 2012
© Univerzita Palackého v Olomouci, 2012

Neoprávněné užití tohoto díla je porušením autorských práv a může zakládat občanskoprávní, správněprávní popř. trestněprávní odpovědnost.

ISBN 978-80-244-3013-3

Neprodejné

OBSAH

Kovy a jejich slitiny	7
prof. RNDr. J. Kameníček, CSc., doc. RNDr. M. Klečková, CSc.	
Přírodní látky kolem nás	24
Mgr. E. Schütznerová, RNDr. L. Brulíková, Ph.D.	
Voda kolem nás	52
RNDr. P. Baizová, Ph.D., Mgr. P. Ginterová, doc. RNDr. T. Nevěčná, CSc.	
Bílkoviny – základ života na Zemi	74
doc. RNDr. L. Zajoncová, Ph.D.	
Krátká exkurze do světa nanotechnologií – milníky, osobnosti, materiály a produkty	97
RNDr. J. Soukupová, Ph.D.	

ÚVOD

Vybrané kapitoly z chemie jsou určeny nejen zájemcům o chemii z řad studentů středních škol, ale všem, kteří se rádi seznámí se zajímavostmi z chemie především prostřednictvím celkem jednoduchých experimentů. Knížka může být i pomůckou učitelů chemie na základních a středních školách. Podnětem k vydání této publikace byly diskuze se studenty, kteří navštěvovali semináře a Letní školy v rámci OPVK projektu „Přírodovědec – Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědecko výzkumné práci v oblasti přírodních věd“ reg.č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

Pět vybraných kapitol autorský kolektiv volil tak, aby každá kapitola byla zaměřena na jinou oblast chemie. Kovy a nekovy (anorganická chemie), Přírodní látky kolem nás (organická chemie), Bílkoviny – základ života na Zemi (biochemie), Voda kolem nás (analytická chemie) a Krátká exkurze do světa nanotechnologií – milníky, osobnosti, materiály a produkty (materiálová chemie)

Za věcné a stylistické připomínky patří dík recenzentům RNDr. Janu Jelínkovi a Mgr. Marku Pavlíčkovi, Ph.D.

V Olomouci 10 února 2012

Autorský kolektiv

KOVY A JEJICH SLITINY

Jiří Kameníček, Marta Klečková, Jana Prášilová

Katedra anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého Olomouc, 17.listopadu 12, 771 46 Olomouc, Česká republika. E-mail: jiri.kamenicek@upol.cz

Abstrakt

Přehledný článek si klade za cíl pojednat obecně o kovech, polokovech a jejich vlastnostech a konkrétně o způsobech výroby vybraných kovů včetně méně známé problematiky slitin. Přímo v textu jsou zařazeny vyzkoušené vhodné ilustrační experimenty k vybraným partiím učiva.

Klíčová slova: Kovy, slitiny, flotace, experimenty s kovy.

Osnova článku:

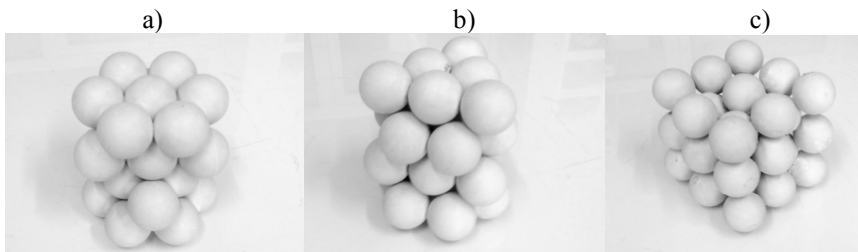
1. Kovy – úvod, fyzikální a chemické vlastnosti, umístění v MPS, kovová vazba
2. Obecné způsoby výroby kovů; konkrétní příklady
3. Vybrané běžné kovy (Fe, Cu, Al, Au) – výskyt, vlastnosti, výroba, užití
4. Polokovy – polovodiče
5. Slitiny, prášková metalurgie

1. Úvod

Kovy (kovové prvky) byly známy již od pradávna. Jde o skupinu pevných látek, vyznačující se charakteristickými vlastnostmi jako jsou např. kovový lesk, kujnost a tažnost, dobrá vodivost tepla i elektrického proudu apod. Některé z nich se v přírodě nacházejí volné (Au, Cu, Pt aj.), většinou však ve formě rud (nejčastěji oxidů, sulfidů, ale i solí kyselin).

Pokud jde o krystalovou strukturu, kovy mohou krystalovat ve třech základních uspořádáních:

- a) Nejtěsnější F-kubické (plošně centrované; sférové koordinační číslo je 12; střídající se vrstvy ABCABCA...), např. Cu, Au, Ag, Pb (prostor je vyplněn cca z 74%)
- b) Nejtěsnější hexagonální (sférové koordinační číslo je 12; střídající se vrstvy ABABAB...), např. Mg, Zn, Cd (prostor je vyplněn cca z 74%)
- c) I-kubické (prostorově centrované; není nejtěsnější, sférové koordinační číslo je 8), např. alkalické kovy, Cr, W, Mo (prostor je vyplněn z cca 68%)



Obr.1 Krystalová struktura kovů (modely)

Ke kovům zařazujeme prakticky všechny přechodné a vnitřně přechodné prvky ve vedlejších podskupinách Mendělejevovy periodické tabulky (MPS) a řadu prvků z hlavních podskupin umístěných vesměs v její levé nebo spodní části (Na, Ba, Tl, Sn, Pb aj.). V MPS najdeme jak velmi reaktivní alkalické kovy, tak i ušlechtilé kovy s minimální chemickou reaktivitou (Au, Pt).

V MPS můžeme u kovů vysledovat řadu pozoruhodných závislostí, např.

- elektropozitivita (schopnost odštěpení valenčních elektronů) vzrůstá v MPS zprava doleva a odshora dolů, takže nejelektropozitivnější kov je Fr
- ve vedlejších podskupinách shora dolů roste stabilita vyšších oxidačních stavů (např. zatímco Cr má stabilní oxidační stav III a v oxidačním stavu VI má silné oxidační účinky, u Mo a W tomu tak není, nejstabilnější je u nich oxidační stav VI bez oxidačních vlastností)
- uvažujeme-li oxidy jednoho kovu v různých oxidačních stavech, platí že v nižších stavech jsou zásadotvorné, ve vyšších naopak kyselinotvorné: srovnaj bazický CrO - Cr(OH)₂; amfoterní Cr₂O₃ - Cr(OH)₃ i chromitany; kyselinotvorný CrO₃ - chromany

Mezi oblastí kovů a nekovů existuje skupina polokovů, označovaných jako polovodiče (Si, Ge, As, Sb).

Pokus 1

Antimon kreslíř

Antimon řadíme mezi polokovy, je modravě kovově lesklý (t. t. 631°C). Na rozdíl od typických kovů je křehký a má vysoký měrný odpor, tzn. špatně vede el. proud.

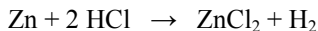
Postup: Velkou fotografickou miskou nebo víko papírové krabice vyložíme papírem tak, aby tvořil rovnou plochu s ohnutými okraji. Do malého porcelánového kelímku vložíme kousky antimonu o velikosti 2-3 zrnek hrachu. Nasadíme si obličejový štít.

Kelímek uchopíme kleštěmi a nad plamenem kahanu antimon roztavíme až se vytvoří stříbrolesklá kulička, kterou ještě 3-5 s zahříváme. Potom taveninu antimonu z výšky 40-50 cm rychle vylijeme na filtrační papír ve fotografické misce.

POZOR – kousky roztaveného antimonu mohou „vyskočit“ z misky!

Pozn. Po ukončení experimentu kuličky antimonu vsypeme zpět do prachovnice.

Z toho vyplývá, že kovy „vlevo“ od vodíku jej mohou vytěšňovat (vyredukovat) z kyselin, zatímco kovy „vpravo“ od vodíku nikoliv:



Pozor!

Měď ale může reagovat s koncentrovanou kyselinou dusičnou nebo sírovou (obecně s kyselinami silných oxidačních vlastností), avšak vodík se v žádném případě neuvolňuje (viz pokus 2).

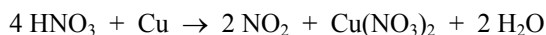
Pokus 2

Reakce mědi s kyselinami

Postup: Do jedné zkumavky nalijeme 3 ml konc. kyseliny sírové (pozor – žíravina!), do druhé 3 ml konc. kyseliny dusičné (pozor – žíravina!) a přidáme půl malé lžičky měděných hoblin nebo práškové mědi. Sledujeme průběh reakce.



U kyseliny dusičné průběh reakce s mědí závisí na její koncentraci. Při použití silně koncentrované kyseliny vzniká oxid dusičitý (1. rovnice), při reakci s méně koncentrovanou kyselinou, která ale ještě stále má oxidační vlastnosti, pak oxid dusnatý (2. rovnice):



Reakce ukončíme, když po chvíli obsah zkumavek opatrně vylijeme do kádinky s 200 ml vody. Měď s velmi zředěnými oxidujícími kyselinami nereaguje, protože leží v Beketovově řadě napětí až za vodíkem.

POZOR - při práci s koncentrovanými kyselinami použijte ochranné rukavice a ochranný štít nebo brýle.

Poznámka:

U některých kovů může dojít při působení koncentrovaných kyselin s oxidačními účinky (H_2SO_4 , HNO_3) k tzv. **pasivaci**, kdy na povrchu kovů dochází ke vzniku kompaktní vrstvičky např. oxidů, bránící další reakci. Tak lze zdánlivě paradoxně např. dopravovat koncentrovanou kyselinu sírovou v hliníkových nebo ocelových cisternách, zatímco zředěnou nikoliv.

Dále platí, že kovy se mohou z roztoků svých solí i vyredukovat vzájemně – vždy však kov více vlevo vytěšňuje (vyredukuje) kov více vpravo (viz pokus 3).

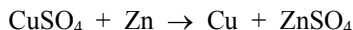
Pokus 3

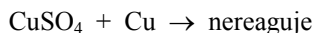
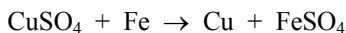
Chemické vlastnosti kovů dle umístění v Beketovově řadě

(vzájemné vytěšňování kovů)

Postup:

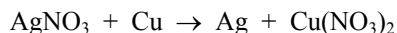
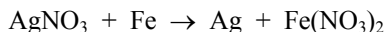
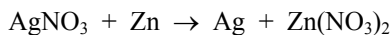
- Do tří zkumavek nalijeme 5 ml roztoku síranu měďnatého (cca 5%) a přidáme do nich pouze jeden kov – granulí zinku, železný hřebík a kousek mědi. Sledujeme průběh změn.





Povrch zinku a železných hřebíků se pokryje vrstvičkou červenohnědé mědi.

- b) Do tří zkumavek nalijeme 5 ml roztoku dusičnanu stříbrného (cca 2%) a přidáme do nich kov – granulí zinku, železný hřebík a kousek mědi. Sledujeme průběh změn.



Na povrchu všech kovů vznikají třpytivé krystalky stříbra nebo se vyloučí černé koloidní stříbro.

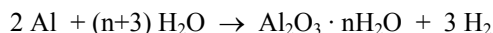
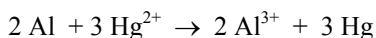
Porovnejte výsledky experimentu s postavením kovů v Beketovově řadě napětí.

Významným jevem, projevujícím se u řady kovů, je korozie. Jde o působení vzdušné vlhkosti a kyslíku, vedoucí k chemickým změnám na povrchu a následně i uvnitř kovu. Typickým případem je železo, kde se jev označuje jako rezivění (vzniká při něm nekompaktní směs oxidů a hydroxid-oxidů železa, např. FeO(OH) , což vede k následnému rozpadnutí materiálu). Proto se musí konstrukce z tohoto kovu chránit před korozí pomocí vhodných antikoročních pigmentů a nátěrů (suřík, Pb_3O_4) nebo pokovováním (zinkování plechu, venkovních ocelových konstrukcí). Rezavé železo lze znovu zpracovat např. v Siemens-Martinských pecích na ocel.

Pokus 4

Korozie amalgamovaného hliníku

Postup: Hliníkovou fólii „alobal“ (cca $7 \times 7\text{cm}$) položíme na dlaň a potřeme roztokem rtuťnaté soli (cca 1%). (Vatu namotáme na krátkou špejli a namočíme do roztoku rtuťnaté soli). Vyloučená rtuť vytváří s hliníkem amalgám. Amalgamovaný hliník pak ochotně reaguje se vzdušnou vlhkostí na hydratovaný oxid či hydroxid-oxid hlinitý.

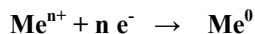


Po chvíli na dlani cítíme při reakci uvolněné teplo a na fólii vzniká bílá jemná látka.

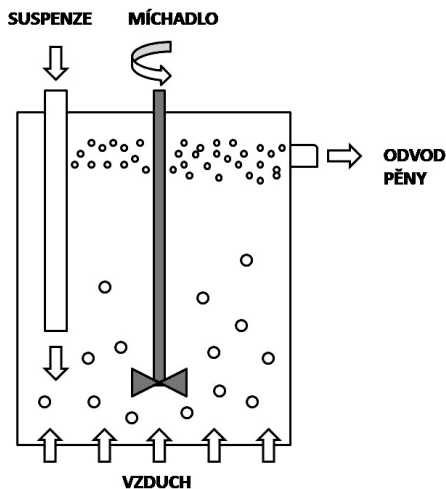
2. Výroba kovů

Získáváním kovů ať už přímo v elementární formě (Au) nebo chemicky z příslušných rud (většina kovů) se zabývá metalurgie. Řada postupů byla známa už ve starověku či středověku (G. Agricola: De re metallicum libri I-XII, 1556).

Obecně lze říci, že většinou postup spočívá ve zkoncentrování rudy (viz flotace) a následněm oxidačním pražení rudy na příslušný oxid a dále jeho redukci, přičemž získáme elementární kov:



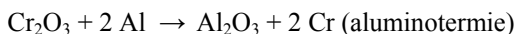
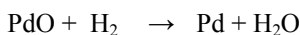
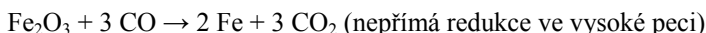
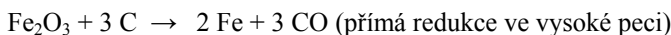
Princip flotace je založen na tom, že zatímco hlušina klesá ke dnu (je smáčena vodou s přísávkem tenzidu), samotná ruda se ve formě tzv. flotačního koncentrátu hromadí v horní části flotátoru ve formě pěny (ulpělé bublinky vzduchu ji nadnášejí, viz obr. 3)



Obr. 3 Flotátor

Vlastní redukce se provádí několika způsoby:

1/ Chemicky pomocí vhodného redukčního činidla, např.

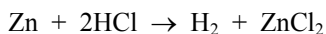


Pokus 5

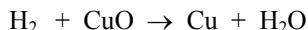
Redukce oxidu měďnatého vodíkem

Při výrobě čistých kovů, např. wolframu, molybdenu, palladia se používá vodík, který má silné redukční vlastnosti. Princip výroby kovů můžeme ukázat na redukci oxidu měďnatého vodíkem.

Postup: Do zkumavky nasypeme půl malé lžičky oxidu měďnatého a umístíme ji vodorovně ve stojanu. Do druhé zkumavky vložíme 3 granule zinku a přilijeme 5 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (1:1), zkumavku uzavřeme zátkou s odvodnou trubičkou.



Vznikající vodík přivádíme do první zkumavky nad oxid měďnatý. Jakmile vodík vytlačí ze zkumavky vzduch, uzavřeme její ústí lehce smotkem vaty a zkumavku v místě, kde je oxid měďnatý intenzivně zahříváme.



Na vrchní vrstvě černého oxidu měďnatého pozorujeme červenou měď.

2/ Elektrolýzou tavenin a vodných roztoků solí kovů

Reaktivní kovy – alkalické kovy, hořčík, hliník se vyrábí elektrolýzou tavenin; oproti tomu jiné kovy – Zn, Cu, Ni aj. se vylučují z vodných roztoků. Obecně platí, že kov se vždy vylučuje na záporné elektrodě (katodě).

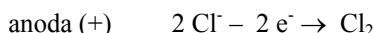
Pokus 6

Elektrolýza roztoku chloridu měďnatého

Postup: Do kádinky s cca 200 ml roztoku chloridu měďnatého (10%) vložíme dvě uhlíkové elektrody, které připojíme ke zdroji stejnosměrného napětí 9V – 12V. Probíhající elektrolýzu můžeme zapsat rovnicí.



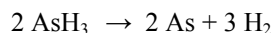
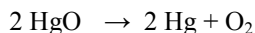
Na elektrodách probíhají tyto dílčí elektrochemické redoxní reakce:



Na katodě se vylučuje elementární měď a na anodě plynný chlor.

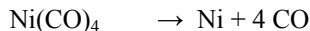
Poměďování: katoda = pokrývaný kovový předmět, elektrolyt = roztok síranu měďnatého, anoda = měděná elektroda (měděný plech).

3/ Tepelným rozkladem sloučenin kovů:

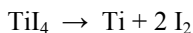


V průmyslové praxi je uvedený postup často používán k získání velmi čistých kovů: Sem patří např.

Mondova výroba čistého niklu pomocí tetrakarbonylu niklu:



van Arkel-de Boerova výroba titanu rozkladem jodidu titaničitého na žhaveném W-vlákně:



3. Vybrané běžné kovy

Nyní pojednáme podrobněji o vybraných kovech, se kterými se setkáváme v běžném životě.

Železo Fe

Železo je technologicky nejčastěji používaný kov a je v literatuře nejlépe zpracováno. Vzhledem k tomu, že běžně dostupné učebnice chemie uvádějí schéma vysoké pece včetně popisu, uvedeme na tomto místě pro doplnění pouze některá méně známá fakta.

Ve vysoké peci se získává tzv. **surové železo** („litina“) redukcí železných rud (oxidů železa) koksem (přímá redukce) nebo oxidem uhelnatým (nepřímá redukce). Takto vyrobené surové železo obsahuje vysoký podíl balastních prvků, zejména uhlíku (řádově procenta), ale i síry a fosforu (řádově desetiny procent); to má za důsledek jeho vysokou tvrdost, ale bohužel i křehkost a malou pružnost, takže se nedá kovat a hodí se jen pro výrobu málo namáhaných výrobků (kanalizační mříže, radiátory, ploty apod.).

Pro výrobu např. mostních konstrukcí, kolejnic, válcovaných plechů na karosérie aj., kde je vyžadována vysoká houževnatost, je potřeba odstranit výše uvedené balastní prvky; zejména obsah uhlíku je nutné snížit pod 1,7%. Jde o tzv. zkujňování železa – výrobu **oceli**, která se provádí spalováním uhlíku za vysoké teploty alternativně třemi metodami, využívajícími různých zařízení:

- 1/ Konvertory – jde o hruškovité nádoby, kde se tekutá litina probublává pod tlakem vzduchem (kyslíkem)
- 2/ Siemens-Martinské pece – do taveniny v nístěji se přidává železný šrot, obsahující oxidy železa, které se zpětně redukují uhlíkem obsaženým v tavenině na železo
- 3/ Elektrické pece – nejnovější metoda používaná pro speciální oceli – spalování uhlíku je dokonalejší, neboť probíhá při vyšší teplotě a získaná ocel je kvalitnější

Ocel se dále upravuje, aby měla požadované vlastnosti. Např. při tepelném zpracování oceli se používá

- **kalení**, tj. zahřátí výrobku na vysokou teplotu a prudké ochlazení např. vodou (zvýší se tím tvrdost, ale i křehkost – překalené ostří sekery se při záseku do suku ulomí)
- **popouštění**, což je obrácený proces, při kterém dochází k zahřátí oceli na vysokou teplotu, ale pozvolnému chladnutí (odstranění křehkosti)

Pro speciální oceli se používá proces legování (záměrné přidávání tzv. legujících prvků do oceli za účelem dosažení požadovaného efektu). Např. manganové oceli se vyznačují tvrdostí (panciře tanků); chromniklová ocel je nerezová a chemicky odolná; do rychlořezných ocelí pro pily se přidává vanad a wolfram apod.

Problémová otázka: Jak se dělají jehly (jehla musí být zároveň tvrdá i pružná)?

Odpověď: Jde o tzv. povrchové kalení, kdy se pouze povrch jehly mžíkově zahřeje vysokofrekvenčním proudem („vnitřek“ jehly zůstane relativně chladný) a rychle se zakalí.

Měď Cu

Vlastnosti: Červenohnědě zbarvený měkký dobře kujný a tažný kov; hustota $\rho = 8,9 \text{ g/cm}^3$, výborný vodič elektrického proudu i tepla. Odolný proti korozi; pokrývá se kompaktní modrozelenou vrstvičkou zásaditého uhličitanu měďnatého, tzv. měděnky $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$.

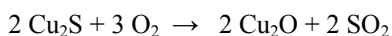
Výskyt: Vzácně ryzí (viz obr. 4); většinou ve sloučeninách s kyslíkem a sírou.



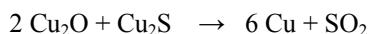
Obr. 4 Obrovský měděný nugget o hmotnosti přes 1 tunu (Whitehorse, Aljaška)

Rudy: Cu_2O kuprit; Cu_2S chalkosin; CuFeS_2 chalkopyrit; $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$ malachit

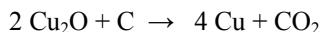
Výroba: Ruda se zkoncentruje a oddělí od hlušiny flotací; následuje pražení



a dále při pražně-reakčním způsobu reakce:



při pražně-redukčním způsobu pak reakce:



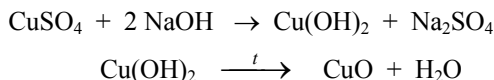
Použití: Vodiče v elektrotechnice, kotle, okapy, trubky, slitiny (bronz, mosaz, mince). Mezi známé sloučeniny mědi patří oxidy (červený Cu_2O , černý CuO); existuje řada měďnatých solí (např. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, skalice modrá).

Pokus 7

Příprava oxidů mědi

Postup:

- a) Do zkumavky nalijeme asi 3 ml roztoku síranu měďnatého (5%) přilijeme asi 5 ml hydroxidu sodného (2%), reakční směs promícháme tyčinkou. Zkumavku uchycenou do držáku krátce zahřejeme nad plamenem.



Při zahřívání ze světla modré amorfni sraženiny hydroxidu měďnatého vzniklá černý oxid měďnatý.

- b) Do zkumavky nalijeme 2 ml roztoku hydroxidu sodného (10%) a přisypeme čtvrt malé lžičky vianu sodnodraselného (cca 0,3g), který se přidává pro zabránění vysrážení hydroxidu měďnatého (měďnatý kation se přednostně váže do komplexu), dobře promícháme. Poté přidáme 2 ml roztoku glukosy (cca 5%).

Do reakční směsi přilijeme 2 ml roztoku síranu měďnatého (5%) opět promícháme tyčinkou. Reakční směs mírně zahříváme (pozor na přehřátí - vyšpláchnutí směsi ze zkumavky).



Po chvíli směs mění barvu, konečný produkt oxid měďný je oranžovočervený.

Pozn. Tato reakce se nazývá Fehlingova reakce, můžeme použít směs 2 ml Fehlingova roztoku I a 2 ml Fehlingova roztoku II, které přilijeme 2 ml roztoku glukosy a mírně zahřejeme.

Pokus 8

Oxidace mědi na kovové spirále

Postup: Do malé kádinky (objem cca 50 ml) nalijeme asi do výšky 1cm ethanol. Měděnou spirálu (Cu drát o tloušťce 1-1,5mm hustě navinutý do 18 závitů o vnitřním průměru 1cm) uchopíme do chemických kleští nebo pinzety a v plameni kahanu nažhavíme jeden konec spirály. Poté ji rychle postavíme do kádinky s ethanollem tak, aby se nedotýkala stěn kádinky. Sledujeme, zda dochází k barevným změnám na spirále.

Vyzkoušejte, jak ovlivní probíhající chemický děj přikrytí kádinky se spirálou hodinovým sklem a její opětovné odkrytí.

Po ukončení reakce se čichem přesvědčíme o vzniku nové látky, štiplavě páchnoucího acetaldehydu.



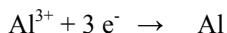
POZOR, ethanol se někdy může zapálit, v tom případě přikryjeme kádinku hodinovým sklem nebo mokrým hadrem (zabrání se tak přístupu vzduchu).

Hliník Al

Vlastnosti: Stříbrolesklý, měkký a lehký ($\rho = 2,7 \text{ g/cm}^3$) kov, odolný proti korozi. Jde o typický amfoterní prvek (reaguje s kyselinami i zásadami).

Výskyt: Pouze ve sloučeninách – bauxit AlO(OH) , kryolit Na_3AlF_6 , korund Al_2O_3 , hlinítokřemičitany (živce, slídy, kaolín); třetí nejrozšířenější prvek v zemské kůře.

Výroba: Elektrolyza Al_2O_3 se provádí v roztaveném kryolitu. Oxid hlinitý (teplota tání 2045°C) se rozpustí v tavenině kryolitu s přidávkem AlF_3 , a CaF_2 (tím dochází ke snížení teploty tání na 950°C a úspoře energie).
Kov se vylučuje na katodě:



Přesto je výroba hliníku je energeticky velmi náročná, na 1 tunu hliníku je třeba cca 15 000 kWh elektrické energie.

Použití: Lehké slitiny; fólie (Alobal), elektrické dráty, redukční činidlo (aluminotermie).

Pokus 9

Hoření hliníku a dalších kovů

Postup:

- Hliníkový drát (cca 20 cm) uchopíme do kleští, vložíme je do plamene plynového kahanu a silně zahříváme, vyzkoušíme, zda bude hořet.
- Z tvrdšího papíru (3 x 20) cm zhotovíme žlábek, do kterého nasypeme k jednomu okraji 1/2 malé lžičky práškového hliníku. Nasadte si ochranné brýle! Pomocí prázdné stříčky sfoukneme z papíru práškový hliník přímo do plamene plynového kahanu. Sledujeme, zda hoří.

Můžeme vytvořit i směs práškových kovů a sfouknout je pomocí prázdné stříčky do plamene. (např. Zn, Al, Cu, Fe apod.).

V experimentu je ověřeno, že většinu běžných kovů v kompaktní podobě (drát, plech) nelze lehce zapálit ani přímo v plameni. Není to ale obecná vlastnost kovů, protože např. hořčík, alkalické kovy a kovy alkalických zemin dobře hoří. Kovy v práškové podobě zapálíme velmi snadno, protože mají velký povrch, v plameni se okamžitě oxidují.

Zlato Au

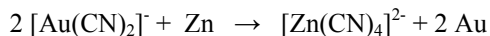
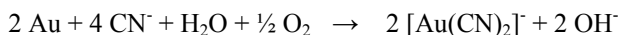
Vlastnosti: Nažloutlý výborně kujný a tažný kov (z 1 g zlata se dá vytáhnout až 165 m dlouhý drát!) vysoké hustoty ($h = 19,3 \text{ g/cm}^3$).

Výskyt: Ryzí^{x/} i jako příměs dalších ušlechtilých kovů; vzácné v rudách (calaverit AuTe_2)

^{x/} Největší kus nalezeného zlata: „Welcome Stranger“, Austrálie r. 1869, $m = 71 \text{ kg}$!

Výroba:

1. Rýžování ze zlatonosných písků a náplav – historický způsob využívající větší hustoty zlata oproti hlušině
2. Amalgámový způsob – využívá rtuti, která váže zlato do amalgámu
3. Kyanidový způsob:



Poslední dvě výroby značně zatěžují životní prostředí. Zdůvodněte proč!

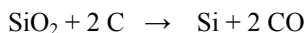
Použití: Klenotnictví – šperky; zubní lékařství, fólie, elektrotechnika, základ měny států

Otázka: Co je karát a proč se v zlatnictví nepoužívá 100% zlato ?

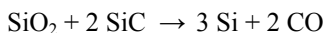
Odpověď: 100% zlato odpovídá 24 karátům; pro výrobu šperků se slévá s Ag („bílé zlato“), s Cu („červené zlato“), s Pt aj. na ryzost např. 14 karátů pro zvýšení tvrdosti a odolnosti proti otěru.

4. Polokovy – polovodiče

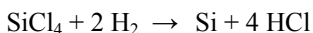
Dnes se jako polovodič užívá většinou křemík (dříve to bylo i germanium). Technický křemík se vyrábí redukcí křemenného písku s uhlíkem v obloukové peci:



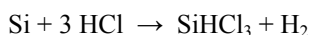
Při reakci však vzniká jako vedlejší produkt i karbid SiC, takže je nutno pracovat v nadbytku SiO₂:

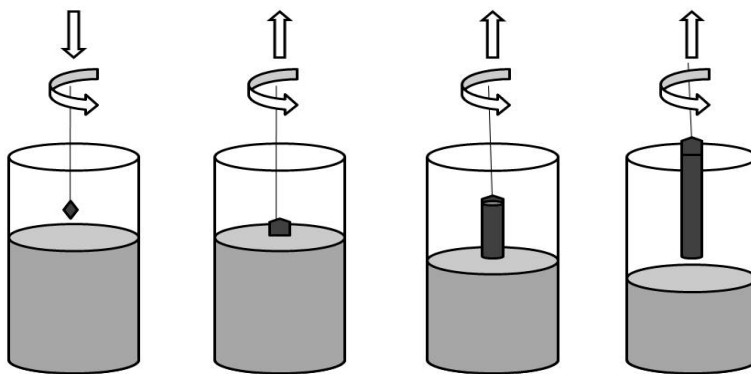


Křemík lze získat rovněž reakcí



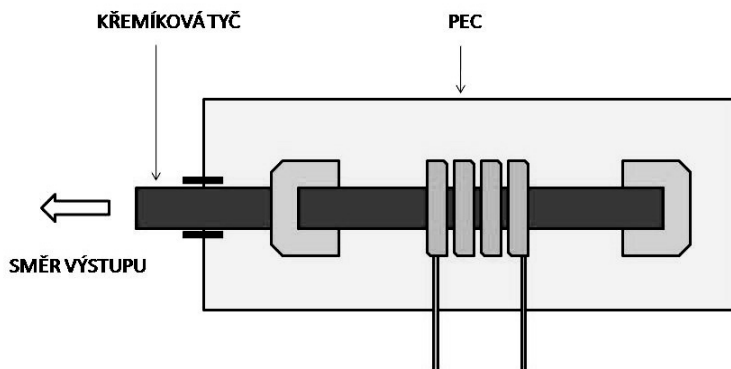
Takto získaný křemík se převádí na trichlorsilan, který rozkladem za vysoké teploty poskytne velmi čistý křemík:





Obr. 5 Czochralského metoda vytahování monokrystalu z taveniny

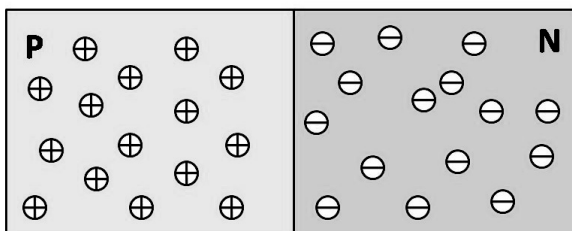
Krystalický křemík se pomalu vytahuje z taveniny za neustálého otáčení (viz obr. 5) ve formě válcovitých tyčí o délce až 1 metr, které se dále čistí zonální tavbou, kdy tyč pomalu prochází pecí při teplotě blízké teplotě tání, přičemž nečistoty difundují proti směru pohybu (viz obr. 6).



Obr. 6 Zonální tavba

Vlastní vodivost polovodičů a její teplotní závislost se využívá ke konstrukci měřidel teploty (termistory).

Daleko větší praktické využití má nevlastní vodivost (příměsová), kdy se do křemíku záměrně přidává stopové množství příměsového prvku - v případě polovodičů typu „N“ prvek z V.A skupiny MPS, např. Sb; u polovodičů typu „P“ prvek z III.A skupiny MPS, např. Ga.



Obr. 7. Přejechod P-N

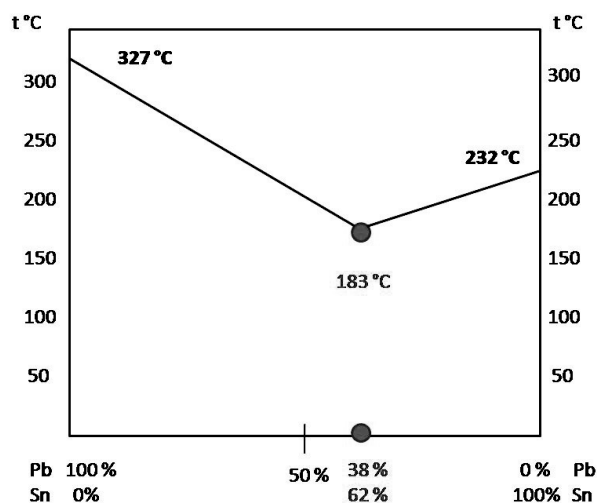
Oblast přechodu - rozhraní P-N (obr. 7) má tu vlastnost, že propouští elektrický proud jen v jednom směru: jde o propustný směr - pólování zdroje musí být P jako + (plus), N jako - (mínus). Při opačné polaritě (závěrný směr) pak proud neprochází. To se využívá při konstrukci polovodičových **diody** za účelem usměrnění střídavého proudu. V případě vícenásobných přechodů se nabízí další využití v elektrotechnice: PNP (NPN) – **tranzistory** (zesilovače); PNPN (NPNP) – **tyristory** (bezkontaktní spínače).

Dnešní technologie používají leptací a litografické techniky, umožňující vznik tzv. **integrováných obvodů**, sdružujících na velmi malé ploše tisíce součástek, které nacházejí použití např. při výrobě počítačů, mobilních telefonů a v mikroelektronice vůbec (čipy, mikroprocesory). Další využití polovodičů je v oblasti citlivých detektorů záření a fotovoltaických článků pro výrobu elektřiny, které v České republice získaly v poslední době velkou podporu.

5. Slitiny

Úvodem této kapitoly uvedme, že nejde v žádném případě o chemické sloučeniny (nemají totiž konstantní chemické složení, jde vlastně o tuhý roztok, kde poměr kovů lze většinou v širokém rozsahu měnit).

Prvotním důvodem výroby slitin (viz bronz, doba bronzová) bylo dosažení lepších vlastností výsledného produktu (tvrdosti, odolnosti, teploty tání aj.), než měly složky slitinu tvořící. Pro ilustraci se podívejme na rovnovážný diagram slitiny Pb-Sn (obr. 8):



Obr. 8 Rovnovázný fázový diagram soustavy olovo - cín

Čisté olovo má teplotu tání 327°C; čistý cín 232°C. Je vidět, že v tzv. eutektickém bodě dochází ke snížení teploty tání slitiny na 183°C (při 38% hmotnostním obsahu Pb a 62% obsahu Sn).

Pokus 10

Elektrotechnická pájka

Postup: Do kelímku navážíme 3g cínu (60%) a 2g olova (40%). Kelímek umístíme do triangu a zahříváme za stálého míchání. Až vznikne homogenní tavenina – slitina Sn (60%) a Pb (40%) změříme teplotu tání resp. tuhnutí slitiny a porovnáme s odečteným údajem z grafu (obr. 8).

Z praktických důvodů se slitiny dělí zpravidla podle typických vlastností a způsobu použití:

1/ Lehké slitiny

Příklady:

magnalium (Al + Mg), dural (Al + Cu + Mg)

elektron (Al + Mg + Zn) používané jako konstrukční materiály zejména v leteckém, ale i automobilovém průmyslu

silumin (Al + Si + Mg) na písty motorů (má malou tepelnou roztažnost)

Jako zajímavost lze uvést speciální slitinu Hiduminium RR58, používanou při konstrukci nadzvukových letadel (Concorde), obsahující Al, Cu, Mg, Fe, Ni.

2/ Slitiny „barevných“ kovů

Příklady:

bronz (hlavní složky Cu + Sn + další kovy dle účelu, např. Be - nejkřší)

mosaz (Cu + Zn + další kovy jako Pb, Sn)

slitiny niklu: konstantan (Ni + Cu) s minimální tepelnou roztažností

nikelin (Ni + Cu + Zn) na odporové dráty

Monelův kov (Ni + Cu v poměru 66:34), chemicky odolný

3/ Nízkotající slitiny

Příklady:

pájka klempířská, elektrotechnická (Pb + Sn)

liteřina (Pb + Sn + Sb), dříve používaná na odlévání tiskařských písmen

Roseův kov (Sn + Pb + Bi), teplota tání 80°C

Woodův kov (Sn + Pb + Bi + Cd), teplota tání 65°C

4/ Amalgámy

Jsou to obecně slitiny kovů se rtutí.

Příklady:

amalgámy alkalických kovů (užití při výrobě NaOH amalgamovým způsobem)

amalgámy ušlechtilých kovů: zlata (užití při těžbě zlata), stříbra (užití v zubním lékařství

– plomby: Hg + Ag + Sn + Cu; dříve nízkoměďnaté do 5% Cu, dnes vysokoměďnaté až 30% Cu).

Prášková metalurgie

Jde o moderní metalurgické odvětví, využívající tzv. **slinování** (spékání) jemných kovových částic. Tyto částice lze získat mechanicky (mletím), srážením kovových par ve vakuu (nízkotající kovy, např. Zn, Mg) i chemicky (jak na suché cestě – rozkladem oxidů či karbonylů – Fe, Ni; tak i na mokré cestě, např. elektrolyticky – Cu). Dokonale promíchaná směs prášků se pak lisuje obrovským tlakem (tisíce MPa) za vysoké teploty, kdy dochází k vlastnímu slinutí. Výhodou metody je vysoká čistota produktů a zvláště pak možnost získání slitin kovů, které se vzájemně v tavenině neslévají.

6. Závěr

Cílem článku bylo podat ucelený přehled o vlastnostech, výrobě a použití vybraných kovů a jejich slitin včetně vyzkoušených ilustračních experimentů. Text je doprovázen řadou obrázků a fotografií a může být univerzálně použitelný nejen pro studenty se zájmem o prohloubení znalostí chemie, ale i jako materiál pro přípravu učitelů k příslušným partiím učiva.

7. Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu OPVK „Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědeckovýzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

8. Použitá literatura

1. Neiser J.a kol. (1981). *Obecná chemická technologie*, SPN Praha.
2. Mocik S., Šimek Z., Halášová R. (1980). *Chemická technológia pre učiteľov*, SPN Bratislava.
3. Bretzsnajder S. (1980). *Všeobecné základy chemické technologie*, ALFA.
4. Büchner W. et. al. (1986). *Průmyslová anorganická chemie*, překl. z něm. VCH, Weinheim.
5. Klečková M., Šindelář Z. (2007). *Školní pokusy z anorganické a organické chemie*, UP Olomouc.

PŘÍRODNÍ LÁTKY KOLEM NÁS

Eva Schütznerová, Lucie Brulíková

^aKatedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, tř.17. listopadu 1192/12, Olomouc, Česká republika. E-mail: schutznerova@orgchem.upol.cz, brulikova@orgchem.upol.cz

Abstrakt

V každodenním životě se setkáváme s širokou škálou přírodních organických látek. Snahou tohoto textu je alespoň z části přiblížit nejběžnější skupiny těchto látek, proniknout do jejich struktury, zamyslet se nad vlastnostmi vyplývajícími z chemického složení a na několika jednoduchých experimentech si danou teorii ověřit.

Klíčová slova: sacharidy, lipidy, bílkoviny.

1. Úvod

Přírodní látky organického původu tvoří nezbytnou součást našeho života. Setkáváme se s nimi bez výhrady kdekoliv. Chléb, který ráno snídáme, obsahuje škrob, polysacharid vyskytující se v obilovinách. Med, kterým si osladíme čaj, je tvořen glukosou a fruktosou, nejběžnějšími monosacharidy. Máslo, kterým si namažeme chléb, je triacylglycerol, látka patřící do skupiny lipidů. Nehty či vlasy obsahují bílkovinu keratin. Všechny procesy, které se odehrávají v našem těle, jsou řízeny komplexními strukturami enzymů - vysokomolekulárními bílkovinami.

Bez žádné z těchto látek by děje odehrávající se v přírodě, v každém organismu, ať již rostlinného či živočišného původu, neprobíhaly správně. Pojdme nyní nahlédnout pod pokličku kuchyně Matky přírody a podrobněji se seznámit s nejběžnějšími skupinami přírodních látek, jejich strukturou, vlastnostmi a nejvýznamnějšími zástupci jednotlivých skupin.

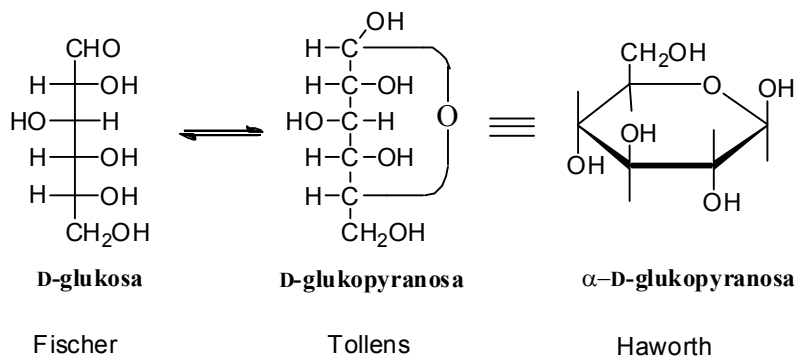
2. SACHARIDY

Sacharidy, též nazývané cukry (z lat. *sacchraum* = cukr) či karbohydráty (z angl. *carbohydrates*), tvoří početnou skupinu přírodních organických látek vyskytujících se ve všech živých organismech. V těle živočichů představují především důležitý energetický zdroj, v těle rostlin jsou součástí buněčných stěn a plní funkci zásobních látek. Nejběžnější glukosa vzniká v rostlinách při fotosyntéze z oxidu uhličitého a vody působením sluneční energie a za účasti chlorofylu jako katalyzátoru. V rostlinách je pak glukosa přeměňována na polysacharidy škrob a celulosu. Ve formě potravy se pak polysacharidy dostávají do těl živočichů, trávením se štěpí na jednodušší sacharidy, kde významnou roli sehrává především glukosa. Glukosa je v těle oxidována, mění se na vodu a oxid uhličitý, který vydechujeme, a uvolněná energie je využita k důležitým životním procesům. Nadbytečná glukosa se v těle živočichů ukládá v jaterních a svalových buňkách ve formě glykogenu.

Sacharidy klasifikujeme dle velikosti molekuly do několika skupin. Nejjednodušší z nich tvoří skupinu **monosacharidů**, sacharidy tvořené 2-10 monosacharidovými jednotkami patří do skupiny **oligosacharidů** a makromolekuly zahrnující více než 10 monosacharidových jednotek nazýváme **polysacharidy**. Monosacharidy i disacharidy jsou obvykle bílé krystalické látky vyznačující se svou dobrou rozpustností ve vodě, polysacharidy jsou ve vodě nerozpustné.

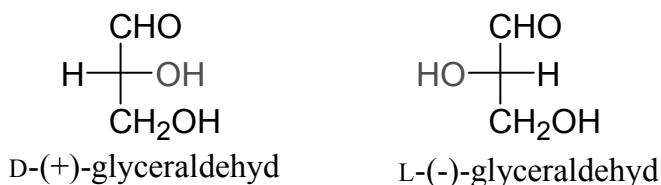
Monosacharidy lze dále klasifikovat dle počtu atomů uhlíku na triosy až heptosy (3-7 atomů C), dle funkční skupiny na **aldosy** (aldehydická skupina na prvním atomu uhlíku) a **ketosy** (keto skupina na druhém atomu uhlíku). Pokud nahlédneme do jejich chemické struktury, zjistíme, že se jedná o polyhydroxyaldehydy či polyhydroxyketony, tedy obecně o polyhydroxyderiváty karbonylových sloučenin.

K znázornění poměrně složitých struktur sacharidů slouží několik typů vzorců. První ze zápisů navrhl již v roce 1891 Emil Fischer a tento způsob znázorňování struktur sacharidů je využíván dodnes. Lineární projekční Fischerovy vzorce mohou být dále převedeny na cyklické Tollensovy či Haworthovy vzorce (obr. 1). Tvorba těchto cyklických struktur je založena na reakci aldehydické či keto skupiny s alkoholem za vzniku hemiacetalu, resp. hemiketalu. Nově vzniklé cyklické útvary pak v závislosti na počtu atomů tvořících cyklus nazýváme **pyranosy** (šestičlenný cyklus) či **furanosy** (pětičlenné cykly). Ve skutečnosti se většina monosacharidů vyskytuje ve směsi cyklické a lineární formy, přičemž cyklická forma ve směsi převládá.



Obr.1. Různé způsoby zápisu monosacharidů.

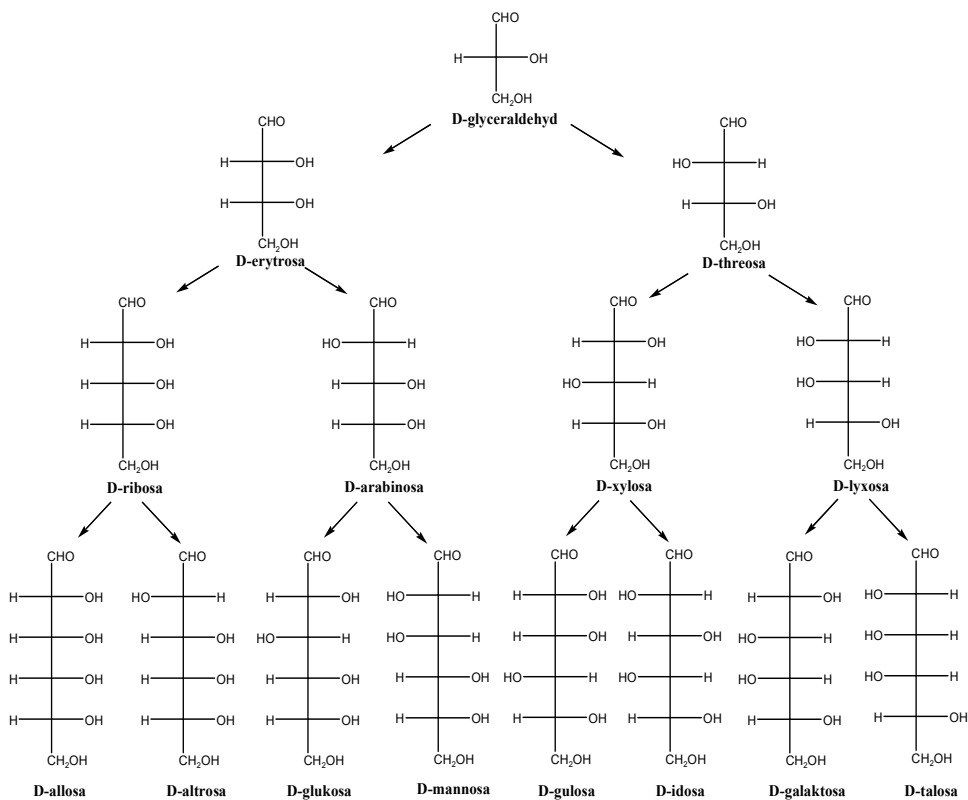
Všechny monosacharidy obsahují jedno či více **stereogenních** (chirálních) **center**, tzn. center, které se vyznačují přítomností 4 různých substituentů na jednom atomu uhlíku. Počet stereoisomerů je dán číslem 2^n , kde n představuje počet stereogenních uhlíkových atomů. Nejjednodušší aldosa je glycerinaldehyd, který obsahuje jediné stereogenní centrum, může se tedy vyskytovat v podobě dvou **enantiomerů** (isomerů, které jsou si navzájem zrcadlovými obrazy) - D-glycerinaldehyd a L-glycerinaldehyd (obr. 2). Z historických důvodů byl zaveden konvenční způsob označování D- a L-sacharidů dle orientace hydroxylové skupiny ve Fischerově projekci. Pokud hydroxylová skupina na posledním stereogenním centru směřuje doprava, tyto deriváty označujeme jako **D-sacharidy** a pokud doleva, tyto sacharidy pak dostávají označení **L-sacharidy**.



Obr.2. Struktura D-glyceraldehydu a L-glyceraldehydu.

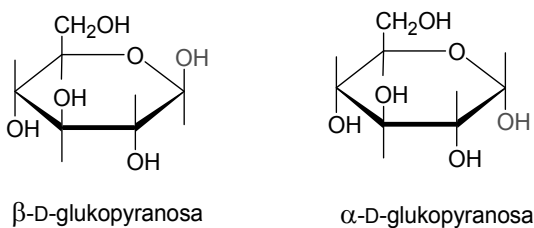
Jednotlivé enantiomery se liší ve své schopnosti stáčet rovinu polarizovaného světla, rozlišujeme enantiomery pravotočivé a levotočivé. Jejich ekvimolární směs nazýváme jako **racemickou směs**, která je opticky inaktivní. Obecně je potřeba si uvědomit, že konfigurace sacharidů označována prefixy D- a L- nijak nesouvisí s optickou otáčivostí. Např. D-glukosa je pravotočivá, avšak D-fruktosa je levotočivá. S tímto jevem souvisí i pojem **invertní sacharid**. Jedná se o ekvimolární směs D-glukosy a D-fruktosy, která vzniká hydrolýzou sacharosy. Invertní cukr je levotočivý na rozdíl od původního disacharidu sacharosy (řepný cukr), která je pravotočivá.

Aldosy odvozené od D-glyceraldehydu vytváří genetickou řadu cukrů, tak jak je znázorněna na obr. 3. Analogicky pak můžeme odvodit celou řadu od L-glyceraldehydu. Pokud pohlédneme na obr. 3, zjistíme, že všechny tetrosy, pentosy i hexosy se liší polohami hydroxylových skupin. V celé řadě lze nalézt sacharidy, které se liší polohou pouze jediné hydroxylové skupiny, a tyto isomery pak nazýváme **epimery**. Např. D-glukosa je epimerem D-mannosy, D-altrosa stejně jako D-glukosa jsou epimery D-allosy.



Obr.3. Genetická řada D-sacharidů.

S nově vzniklým cyklem (který je tvořen reakcí aldehydicke či keto skupiny s alkoholem, viz výše) dochází rovněž k vytvoření nového stereogenního centra, které nazýváme jako **anomerní** a od něhož jsou odvozeny dva tzv. **anomery** - alfa a beta (obr. 4). Jednotlivé anomery se liší **optickou otáčivostí**, tedy schopností stáčet rovinu polarizovaného světla. Po rozpuštění jednotlivých anomerů dojde po jisté době k ustálení hodnoty optické otáčivosti, ustálení rovnováhy mezi oběma anomery a tento jev nazýváme **mutarotace**.

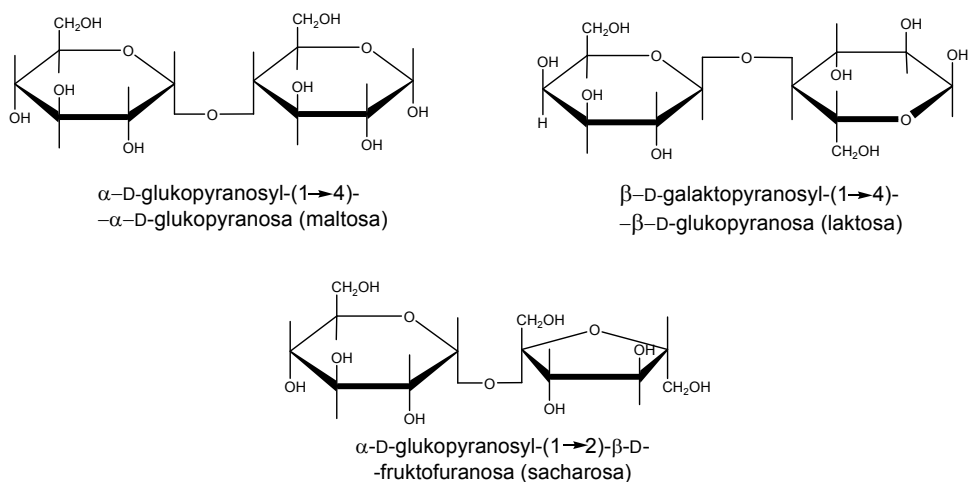


Obr.4. Anomery D-glukopyranosy.

Anomerní centrum, jakožto nejreaktivnější část molekuly, může podléhat reakci s hydroxylovou skupinou za vzniku nové *O*-glykosidické vazby. Takovým způsobem vznikají nejrůznější oligo- a polysacharidy. Z hlediska chemických vlastností sacharidů je důležité, mezi kterými částmi sacharidu se tato glykosidická vazba tvoří. Pokud se na vzniku glykosidické vazby podílí dva anomerní (hemiacetalové) hydroxyly dvou sacharidů, vznikající sacharid je poté tzv. **neredukující**. Pokud však reaguje anomerní hydroxylová funkční skupina jednoho monosacharidu s jinou než anomerní hydroxylovou skupinou jiného monosacharidu, vznikající disacharid bude mít stále volné reaktivní anomerní centrum. Tyto sacharidy pak nazýváme **redukující**. Pojmy redukující a neredukující sacharid souvisí se schopností aldosa podléhat oxidacím působením vhodného oxidačního činidla. Mezi tato činidla řadíme např. Fehlingovo činidlo - modrá skalice ve vodném alkalickém roztoku vlnanu sodného, či Tollensovo činidlo - směs dusičnanu stříbrného ve vodném roztoku amoniaku.

Pozitivní test se projeví vyloučením červenohnědé sraženiny oxidu měďného v případě Fehlingova činidla či kovového stříbra v případě, že použijeme činidlo Tollensovo.

Mezi nejběžnější disacharidy řadíme maltosu, laktosu a sacharosu (obr. 5). **Maltosa** je disacharid složený ze dvou molekul D-glukopyranosy vzájemně vázaných (1→4)- α -glykosidovou vazbou, vzhledem k volnému anomernímu centru je to sacharid redukující. **Laktosa**, disacharid, který se vykytuje např. v mléce, je rovněž redukující sacharid. **Sacharosa**, kterou možná známe pod názvem řepný či třtinový cukr, je složena z D-glukosy a D-fruktosy. Na rozdíl od dvou předchozích se jedná o cukr neredukující, nemá hemiacetalovou skupinu.



Obr.5. Struktury nejběžnějších disacharidů.

Polysacharidy představují početnou skupinu látek složenou z desítek až tisíců monosacharidů vzájemně spojených glykosidovými vazbami. Mezi dva nejrozšířenější polysacharidy patří celulóza a škrob. **Celulóza** je polysacharid složený z několika tisíců glukosových jednotek a v přírodě hraje významnou roli jako základní stavební materiál

v těle rostlin. V běžném životě se také můžeme setkat s celulosou v podobě komerčně dostupné vaty. Pokud bychom hydroxylové skupiny celulosy převedly na nitro deriváty, získáme tzv. **střelnou bavlnu**, jež představuje hlavní složku bezdýmného střelného prachu. S dalším polysacharidem, škrobem, se opět setkáváme v každodenním životě v podobě brambor, kukuřice či obilovin. **Škrob** je polymer glukosy s glukosovými jednotkami navzájem spojenými (1→4)- α -glykosidovými vazbami. Je tvořen 20% amylosy a 80% amylopektinu.

2.1 Záhada modrého roztoku

Pomůcky a chemikálie:

Baňka 250 ml, zátka.

Hydroxid sodný NaOH, glukosa, methylenová modř.

Postup práce:

Ve 100 ml vody se rozpustí 2 g hydroxidu sodného a 2 g glukosy. K roztoku přidáme 4 ml 0,1% roztoku methylenové modři. Baňku uzavřeme gumovou zátkou. Modrý roztok se po několika minutách zcela odbarví. Při protřepání se znovu objeví modrá barva roztoku.

Pozorování a vysvětlení:

Jev je způsoben oxidací methylenové modři (její oxidovaná forma je bezbarvá, redukovaná forma modrá) kyslíkem uvnitř baňky. Jestliže necháme baňku stát, glukosa (redukující cukr) v alkalickém prostředí zredukuje modř zpět na bezbarvou formu. Celý děj se opakuje tak dlouho, dokud není glukóza vyčerpána.

2.2 Stanovení cukru v jablečné šťávě

a) Fehlingova zkouška

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavky, stojan na zkumavky, držák na zkumavky, 3 pipety s balónkem, Bunsenův kahan, Fehlingův roztok I (7 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v 100 cm^3 vody), Fehlingův roztok II (35 g vlnanu sodno draselného + 10 g NaOH v 100 cm^3 vody).

Jablečná šťáva.

Postup práce:

2 cm^3 roztoků Fehlingova činidla I a II smíchejte ve zkumavce, přidejte 2 cm^3 jablečné šťávy a zahřejte.

Pozorování a vysvětlení:

Pozitivní reakce - oranžovočervená barva.

Jablečná šťáva obsahuje redukující sacharidy.

b) Důkaz glukosy

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavky, stojan na zkumavky, 3 pipety s balónkem, roztok jódu I₂ v jodidu draselném KI (c = 0,1 mol.dm⁻³), roztok hydroxidu sodného NaOH (c = 2 mol.dm⁻³). Jablečná šťáva, destilovaná voda.

Postup práce:

Do jedné zkumavky dejte 2 cm³ roztoku jódu a po kapkách přidávejte NaOH tak dlouho, dokud nevznikne světle žluté zbarvení. Potom přidejte 2 cm³ jablečné šťávy. Důkaz glukosy v zásaditém prostředí je specifický důkaz pro aldosity.

Pozorování a vysvětlení:

Pozitivní reakce - hnědé zbarvení.



Jodnan oxiduje aldosity a přitom se vyredukuje jód (hnědá barva).

c) Důkaz fruktosy

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavky, stojan na zkumavky, pipeta s balónkem, držák na zkumavky, Bunsenův kahan, rezorcinol, koncentrovaná kyselina chlorovodíková HCl. Jablečná šťáva.

Postup práce:

Ve zkumavce smíchejte 3 cm³ jablečné šťávy s 3 cm³ koncentrované HCl. Potom přidejte na špičku špachtle rezorcinol a zahřejte na Bunsenově kahanu.

Pozorování a vysvětlení:

Pozitivní reakce - červené zbarvení. Specifický důkaz na ketosy - Seliwanova reakce.

2.3 Důkaz redukujících sacharidů v dužinatých plodech

Pomůcky a chemikálie:

Třecí miska s tloučkem, kádinka, nálevka, zkumavky, kahan. Bobule hroznového vína, kousky jablka, dužina pomeranče (příp. jiného ovoce), Fehlingův roztok I, II, destilovaná voda.

Postup práce:

Vybraný druh ovoce rozetřete v třecí misce s přidavkem destilované vody na kašovitou masu a přefiltrujte. Do několika cm³ filtrátu ve zkumavce přilijte 2 cm³ Fehlingova roztoku I a II. Obsah zkumavky krátce považte.

Pozorování a vysvětlení:

Červenoohnědé zbarvení kapaliny způsobené vyredukovaným oxidem měďným, který se po chvíli usadí na dně zkumavky, je důkazem přítomnosti glukózy a fruktózy v ovoci. Glukosa a fruktosa způsobuje sladkou chuť ovoce v jablečné šťávě. Patří mezi monosacharidy s karbonylovou funkční skupinou, která má redukční vlastnosti. Když přidáme do cukerného extraktu plodů snadno redukovatelné látky, vzniká typické zbarvení nebo sraženina.

! Při pokusu je třeba věnovat zvýšenou opatrnost při zahřívání zkumavky nad kahanem. Produkty experimentu nejsou nebezpečné!

2.4 Stanovení obsahu cukru ve sterilizované zelenině

Pomůcky a chemikálie:

Navážovací miska, odměrná baňka 500 cm³, dělená pipeta 5 cm³, filtrační papír, kádinka 500 cm³, pipeta, odměrná baňka 100 cm³, teploměr, kulatá baňka 300 cm³, odměrný válec, exsikátor, sušárna, mixér.

Kyanoželeznatan draselný K₄[Fe(CN)₆], síran zinečnatý ZnSO₄, koncentrovaná kyselina chlorovodíková HCl, 30% roztok hydroxidu sodného NaOH, roztok fenolftaleinu, ethanol.

Postup práce:

Vzorek důkladně v mixéru zhomogenizujte a do navážovací misky navažte 60 g. Uvedené množství vzorku dejte do odměrné baňky, přidejte 3 cm³ roztoku K₄[Fe(CN)₆] kyanoželeznatanu draselného (příprava: 150 g K₄[Fe(CN)₆].3H₂O rozpustit v minimálním množství vody a doplnit na 1 litr) a za stálého míchání 5 cm³ roztoku síranu zinečnatého ZnSO₄ (příprava: 204,3 g ZnSO₄.7H₂O rozpustit v minimálním množství vody a doplnit na 1 litr). Obsah baňky doplňte po značku vodou, promíchejte a zfiltrujte. Z filtrátu odpipetujte 50 cm³ do odměrné baňky, přidejte 5 cm³ koncentrované kyseliny chlorovodíkové HCl a zahřejte (5 min.) při teplotě 67 - 70°C. Potom obsah baňky ochlaďte a zneutralizujte 30% roztokem NaOH. Opět ochlaďte, doplňte po značku vodou a promíchejte. Do kulaté baňky odpipetujte 25 cm³ Fehlingova roztoku I a stejné množství Fehlingova roztoku II. Přidejte 25 cm³ zneutralizovaného roztoku, 30 cm³ vody a přiveďte k varu, který udržujte 2 min. Potom obsah baňky ochlaďte ve studené vodě. Tekutina nad vrstvou vysráženého oxidu měďného musí být modrá. Přefiltrujte a promyjte nejprve horkou vodou, potom 3 - krát ethanolom a etherem. Produkt vysušte při teplotě 105°C (45 min.). Po vychladnutí v exsikátoru produkt zvažte. Vypočítejte množství cukrů ve vzorku podle vztahu

$$x = \frac{a \cdot 0,95}{1000 \cdot n} \cdot 100$$

kde x = množství cukru v procentech,

a = hmotnost produktu v g,

n = původní hmotnost vzorku v g.

2.5 Složení sacharidů

Pomůcky a chemikálie:

3 zkumavky, stojan na zkumavky, držák na zkumavky, lžička, kahan. Sacharóza (cukr), škrob, celulóza (vata).

Postup práce:

Do zkumavky nasypete 2 lžičky sacharózy a opatrně zahřívejte nad kahanem. Pozorujte chování cukru a stěnu zkumavky. To stejně zopakujte se škrobem a s celulózou.

Pozorování a vysvětlení:

Sacharidy se zbarvují nejprve do hněda, potom do černa. V horní části zkumavky se srážejí kapky vody. Vyvíjejí se hnědé hořlavé plyny. Silným zahříváním sacharidy zuhelnatují. Vznikne černý uhlík. Přitom se vyvíjejí hořlavé plyny - CO a uhlovodíky. Na stěně zkumavky se při jejím ústí sráží vodní pára.

Sacharidy se skládají z atomů uhlíku, vodíku a kyslíku, přičemž poměr atomů kyslíku k atomům vodíku je 1:2. Proto je ve všech sacharidech počet atomů kyslíku k počtu atomů vodíku ve stejném poměru jako ve vodě, např. glukosa (hroznový cukr) $C_6H_{12}O_6$ a sacharosa (třtinový cukr) $C_{12}H_{22}O_{11}$.

! Při pokusu je třeba věnovat zvýšenou opatrnost při zahřívání zkumavky nad kahanem. Produkty experimentu nejsou nebezpečné !

2.6 Termická degradace cukrů - karamelizace

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavky, držák na zkumavky, lžička, lihový kahan, kádinky. Sacharosa (cukr), mléko, voda.

Postup práce:

Do zkumavky nasypete lžičku sacharózy a opatrně zahřívejte nad lihovým kahanem. Když se látka roztaví a mírně ztmavne, rozdělte ji do dvou zkumavek. Do první přidejte mléko a do druhé vodu. Ověřte rozpustnost. Do čisté zkumavky opět nasypete sacharózu a intenzivně ji zahřívejte nad kahanem. Pozorujte, co se děje s obsahem.

Pozorování a vysvětlení:

Krystalky sacharosy se při zahřívání roztavily a kapalná látka následně ztmavla - získali jsme karamel. Karamel je rozpustný ve vodě i v mléku. Dalším zahříváním (v druhé zkumavce) se sacharóza úplně rozkládá, přičemž ze zkumavky se intenzivně dýmí a na stěnách okolo ústí zkumavky se srážejí kapky vody. Sacharosa (řepný cukr) tvoří molekulové krystaly, molekuly jsou velké, polární a v krystalu jsou navzájem poutány slabými vazbami. Proto je krystal sacharosy při vysoké teplotě nestálý a rozpadá se. Při teplotě 150 až 190°C dochází ke karamelizaci sacharózy a vznikají hnědé až hnědočerné produkty různého složení, tj. karamel.

Působením vysoké teploty se cukry postupně rozkládají až na oxid uhličitý (ten uniká ze zkumavky) a vodu (vodná pára se sráží na kapalinu na chladnější stěně zkumavky).

! Při pokusu je třeba věnovat zvýšenou opatrnost při zahřívání zkumavky nad kahanem. Produkty experimentu nejsou nebezpečné!

2.7 Invertní cukr

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka (hrneček), lžička, vaříč.

Sacharosa (cukr), kyselina mléčná ($\text{CH}_3\text{-CH(OH)-COOH}$).

Postup práce:

Do kádinky si připravte vodný roztok sacharózy (asi 5 lžiček cukru v 100 cm^3 vody). Do roztoku přidejte několik kapek kyseliny mléčné a směs za stálého míchání zahřívajte na vaříči. Sledujte změny vzhledu a vůně.

Pozorování a vysvětlení:

Zahříváním získáte hnědou vysoce viskózní látku s velmi příjemnou vůní připomínající vůni medu.

Sacharosa (řepný cukr) je disacharid, složený z molekuly glukosy a fruktosy. Působením kyseliny nastává její kyselá hydrolyza, při které vzniká invertní cukr – ekvimolární směs glukosy (hroznový cukr) a fruktosy (ovocný cukr).

! Při experimentu věnujte zvýšenou pozornost manipulaci s horkými předměty!

2.8 Krystalizace sacharózy

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka (hrneček, širší sklenice), vaříč, lžička, nit', tužka.

Sacharosa (cukr), voda.

Postup práce:

Do kádinky s horkou vodou postupně přidávejte sacharosu. Až už se cukr přestane rozpouštět (i když roztok mícháme), přestaňte ho přidávat. Tím jsme vytvořili nasycený roztok. Potom na tužku uvažte nit' a ponořte ji kolmo dolů do roztoku cukru. Pozorujte, co probíhá na nitce (nechejte v klidu 24 hodin).

Pozorování a vysvětlení:

Po určité době se v kádince začínají tvořit krystalky. Ty se postupně zvětšují. Krystalky, které se vytvoří na hladině, je možné opatrným vytáhnutím nitky vybrat a prohlédnout si je. Rozpuštěná látka (sacharosa - řepný cukr) se rozpouští v rozpouštědle (ve vodě) jen do určité míry při dané teplotě a vytváří nasycený roztok. Rozpustnost tuhých látek se u většiny případů s teplotou zvyšuje. Proto se chladnutím stává z nasyceného roztoku přesycený a začínají se z něho vylučovat krystalky rozpuštěné látky - v našem případě sacharosy.

2.9 Faraonovi hadi

Pomůcky a chemikálie:

Porcelánová miska, špejle, pipeta.

Popel, etanol C_2H_5OH , cukr, jedlá soda (hydrogenuhličitan sodný $NaHCO_3$)

Postup práce:

Do misky nasypete nehořlavý materiál (popel z kamen, cigaretový popel, písek, silikagel, Cr_2O_3), zvlhčete lihem, uprostřed udělejte důlek a do něj nasypete směs tvořenou z 9 dílů cukru (krystal) a 1 dílu jedlé sody. Celou takto připravenou směs špejlí zapálíme. Sledujeme průběh reakce. Který prvek tvoří černou složku „těla hada“?

Pozorování a vysvětlení:

Vznícený lih rozzhává uhlí a následně se rozežřeje cukr. Z roztaveného cukru vznikne karamel, který tvoří pěnu s oxidem uhličitým vzniklým tepelným rozkladem sody. Karamel na vzduchu ihned tuhne a vzniká pěnový had. Ten pomalu vylézá z kopyčky "kynoucí" směsi. Pokud chcete zvýšit rychlost vyrůstání hada, můžete směs udělat z dvojnásobného množství sody, tedy v poměru 9:2 (cukr:soda).

! Pozor při dolévání ethanolu, hrozí nebezpečí popálení!

2.10 Izolace škrobu z bramborové hlízy

Pomůcky a chemikálie:

Nůž, struhadlo, 2 kádinky (skleničky od majonézy), lžička, gáza, nálevka.

Brambora, voda.

Postup práce:

Bramboru oloupejte a nastrouhejte. Nastrouhanou hmotu potom v kádince zalijte vodou a intenzivně promíchejte. Směs přeced'te přes hustou gázu.

Pozorování a vysvětlení:

Na dně kádinky s filtrátem se usadila bílá látka. Filtrát obsahuje směs škrobu a vody. Hlíza brambory obsahuje až 20% škrobu. Z polysacharidu škrobu lze vařením v horké vodě oddělit dvě části: amylosu (tvoří 10 - 20%), která je ve vodě nerozpustná a amylopektin (80 - 90 %), který se ve vodě rozpouští. Amylosa (molekuly glukosy vázané vzájemně 1,4 α -glykosidickou vazbou). Molekula amylosy se skládá z 250 až 1000 glukosových zbytků.

2.11 Důkaz škrobu

Pomůcky a chemikálie:

3 zkumavky, lžička, kahan.

Roztok jódu I_2 v jodidu draselném KI, škrob $C_6H_{10}O_5$.

Postup práce:

Do zkumavky nasype lžičku škrobu. Přidejte několik kapek zředěného roztoku jódu v jodidu draselném.

Do dvou zkumavek dejte po lžičce škrobu. Zkumavky naplňte do poloviny destilovanou vodou. První zkumavku pořádně protřepte a přidejte několik kapek roztoku jódu v jodidu draselném. Druhou zkumavku za stálého protřepávání zahřejte nad plamenem až k varu. Nechejte vychladnout. Potom přidejte několik kapek roztoku jódu v jodidu draselném a promíchejte.

Pozorování a vysvětlení:

Suchý škrob i roztok škrobu se po přidání roztoku jódu v jodidu draselném zbarvuje tmavě modře.

V první zkumavce se roztok škrobu ve vodě nerozpustí, usadí se na dně zkumavky.

Ve druhé zkumavce se varem škrob úplně rozpustí a s vodou vytvoří koloidní roztok.

! Při pokusu je třeba věnovat zvýšenou opatrnost při zahřívání zkumavky nad kahanem. Produkty experimentu nejsou nebezpečné!

2.12 Termický rozklad škrobu, vznik dextrinů

Pomůcky a chemikálie:

Trouba na pečení.

Těsto z mouky, cukru, vody.

Postup práce:

Z těsta připraveného z mouky, cukru a vody udělejte kuličky. Dejte je péct do vyhřáté trouby. Pozorujte změnu jejich barvy.

Pozorování a vysvětlení:

Působením vysoké teploty povrch těsta ztmavne. Polysacharidy (např. škrob) se působením vysoké teploty rozkládají na dextriny (látky s nižší molekulovou hmotností). V případě, že do těsta přidáte i droždí, dextriny vytvoří na povrchu pečiva kompaktní vrstvu hnědé barvy - jako je např. kůrka na chlebě. Těsto bez přídavku droždí hnědne i uvnitř.

! Při experimentu věnujte zvýšenou pozornost manipulaci s horkými předměty!

2.13 Změna viskozity roztoku škrobu v závislosti na teplotě – mazovatění

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka (hrneček), vaříč, tyčinka (lžička), papír.

Roztok škrobu připravený z brambory.

Postup práce:

Roztok škrobu připravený z nastrouhané brambory zahřívajte v kádince. Po dobu zahřívání roztok míchejte. Sledujte jak se mění vlastnosti roztoku.

Pozorování a vysvětlení:

Zahříváním roztoku vzniká kapalina s vysokou viskozitou. Když ji přenesete na papír, lepí ho. Škrob se ve studené vodě téměř nerozpouští. Záhřevem však mazovatí, tj. vytváří viskózní roztok. Po ochlazení koncentrovaného roztoku se získá matná, lepkavá hmota - škrobové lepidlo.

! Při experimentu věnujte zvýšenou pozornost manipulaci s horkými předměty. Produkty experimentu nejsou zdraví škodlivé!

2.14 Důkaz celulosy

Pomůcky a chemikálie:

Potřeby na mikroskopování, preparační jehly.

Kousek bavlněné příze (nezaměnit bavlněnou přízi se syntetickým vláknem) nebo několik vláken vaty, chlórzinkjód.

Postup práce:

Kousek bavlněné příze roztřepete preparačními jehlami v kapce chlórzinkjódu na podložním sklíčku. Pro kontrolu přiložte několik vláken vaty (vata je čistá celulosa). Připravte preparát a mikroskopujte.

Pozorování a vysvětlení:

Bavlněné vlákno je šroubovitě stočené, což je pro bavlnu charakteristické a mikroskopem dobře viditelné (na rozdíl od syntetického nebo vlněného vlákna). Po celé délce vidíme dutinu se zbytky cytoplazmy. Při nejsilnějším zvětšení je na povrchu viditelná jemně zvrásněná kutikula. Působením chlórzinkjódu se vlákno zbarvuje modře až fialově, což je pozitivní reakce na celulózu.

Celulosa je hlavní složkou buněčných stěn. Je to polysacharid, který tvoří jednovláknové molekuly celobiosy. Počet jednotek je 2000 - 10000 a molekulová hmotnost je $1-2 \cdot 10^6$. Molekuly celulosy jsou vláknité a nerozpustné ve vodě. Jódem se nebarví. Má tedy jiné chemické složení než škrob.

2.15 Rozklad celulosy

Pomůcky a chemikálie:

3 sklenice s uzávěry, filtrační papír, nůžky.

Půdní vzorek: zahradní půda, kompostová půda, písek, voda.

Postup práce:

Každou sklenici naplníte asi do 3 cm půdním vzorkem a dobře půdu navlhčete. Na každý vzorek dejte filtrační papír (6 x 2 cm) a dobře přitlačte k půdě. Sklenic uzavřete a nechejte stát při pokojové teplotě.

Pozorování a vysvětlení:

Po několika dnech se na filtračním papíru položeném na kompostové půdě vytvoří žluté, hnědé a černé skvrny a papír se na těchto místech proděraví (poznámka: filtrační papír může být porostlý plísněmi, přičemž nedojde k jeho rozložení. Proto je nutné všimnout si, jestli dojde po delší době k úplnému rozkladu napadených míst). Rovněž okraje papíru jsou značně narušené. Stejně procesy probíhají, ale pomaleji, ve sklenici se zahradní půdou a nejpomaleji ve sklenici s pískem. Půdní mikroorganismy mají schopnost rozkládat celulózu. Nejvíce se vyskytují v kompostové půdě, méně v zahradní a nejméně v ní v písku.

2.16 Střelná bavlna

- velmi efektivní a jednoduchá na výrobu.

Pomůcky a chemikálie:

250 ml kádinka, skleněná tyčinka, pH papírky, ochranný štít

25 ml dýmavé kyseliny dusičné, 55 ml kyseliny sírové, vata, uhličitan sodný Na_2CO_3

Postup práce:

Do vysoké 250 ml kádinky se nalije směs 25 ml dýmavé kyseliny dusičné a 55 ml kyseliny sírové. Po vytemperování na teplotu 20-25 °C se vnese ve třech částech 5 g celulosy (vaty). Celulosa se nesmí při tom vznášet na hladině, neboť začne uhořovat. Míchá se skleněnou tyčinkou. Po 60 minutách za občasného promíchání se nitrační směs odlijí a nitrocelulosa se vloží do 500 ml studené vody (5-10 °C) v 1 l kádince. Po důkladném proprání (5-10 min) se promývací voda odlijí a vymění za další dávku. Toto se opakuje do té doby, až je pH promývací vody jen mírně kyselé. Zbytková, neadsorbovaná kyselina se odstraní propráním ve 200 ml 2% roztoku uhličitanu sodného (asi 10 min). Poté se nitrocelulosa vyždímá, promáchá v destilované vodě a stabilizuje.

Stabilizace: Propraná nitrocelulosa se vaří pod zpětným chladičem ve 250 ml vody s tím, že po každé hodině se voda vymění za novou (3x).

Zkouška hoření: malý kousek nitrocelulosy „načechráme“ a přiložíme doutnající špejli, náhle vzplane a vytvoří záblesk silné intenzity.

Pozorování a vysvětlení:

Vata nitrací získala výbušné vlastnosti. Je velice citlivá na vnější podněty. V malém množství hoří, ve velkém razantně exploduje.

Upozornění:

Střelnou bavlnu vyrábíme v digestoři, při práci s nitrační směsí dochází k tvoření dusivého plynu. Může se stát, že pokud se nepodaří udržet během nitrace dostatečně nízkou teplotu, tak se vytvoří ohnisko, kde se začnou prudce vyvíjet hnědé dýmy a vata se začne spalovat. Pro tento případ je třeba mít po ruce větší nádobu s vodou a rychle do ní obsah kádinky vyklopit. Zachráníte tím alespoň část produktu.

Pamatujte, že při přípravě nitrační směsi lijeme kyseliny sírovou do kyseliny dusičné. Nikdy naopak!!!

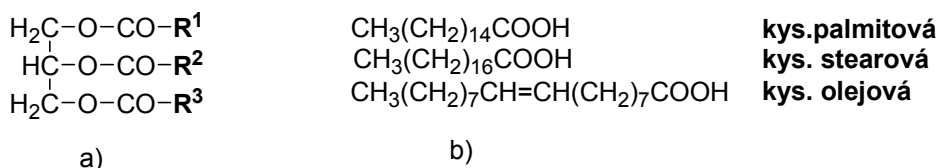
Při slévání kyselin používejte ochranný štít. Dochází k prudkému zahřívání. Kyseliny při prudkém slévání mohou vyprsknout a zasáhnout obličej. Proto je třeba slévat kyseliny velmi opatrně po malých dávkách.

Nitrocelulosa se nemusí stabilizovat, pokud se do 7 dnů spotřebuje.

3. LIPIDY - TUKY A OLEJE

Lipidy (z řeckého *lipos* = tučný) představují početnou skupinu přírodních látek rostlinného i živočišného původu, do které řadíme tuky, oleje, vosky, vitamíny, terpeny, steroidy. Jejich nejvýraznější vlastností je jejich velmi omezená rozpustnost ve vodě. Naproti tomu se velmi dobře rozpouští v nepolárních rozpouštědlech, jako jsou benzen, chloroform či tetrachlormethan. V našem povídání se zaměříme především na poměrně rozsáhlou skupinu sestávající z tuků a olejů. Z hlediska biologického slouží tuky jako významný zdroj energie a rovněž plní nezbytnou funkci rezervních látek.

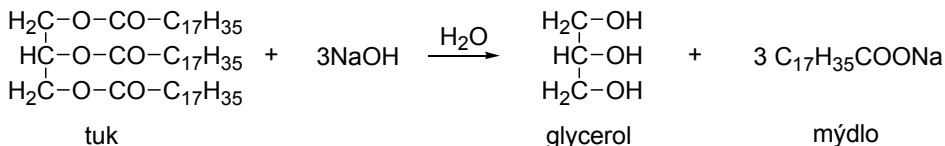
Z pohledu chemického složení se jedná o triacylderiváty glycerolu, proto se též můžeme setkat s alternativním názvem *glyceridy* (obr. 6). Substituenty R^1 - R^3 jsou alkyly odvozené od vyšších monokarboxylových kyselin o lichém počtu atomů uhlíku v rozmezí C_{11} - C_{23} . Těmito vyššími alifatickými monokarboxylovými kyselinami (se sudým počtem atomů uhlíku), obecně nazývané **mastné kyseliny**, může být např. kyselina palmitová, stearová či olejová.



Obr.6. Triacylglycerol (a) a vyšší mastné kyseliny (b).

Tuky jsou za běžných teplot pevné látky, oleje kapaliny. Tato obecná vlastnost souvisí se složením obou skupin lipidů. V tucích převládají nasycené mastné kyseliny, kdežto v olejích nenasycené. Tuky i oleje můžeme dále dělit na rostlinné a živočišné. Asi každý se někdy setkal s nepříjemným zápachem starého másla či oleje. Podstatou toho zápachu je chemická reakce, ke které dochází působením tepla, světla a vzduchu. Dvojná vazba nenasycené mastné kyseliny je atakována molekulou kyslíku a dochází k rozštěpení násobné vazby za vzniku aldehydů. Tento proces nazýváme žluknutí. Dvojná vazba v rostlinných olejích mohou být také katalyticky hydrogenovány a poskytovat tak nasycené kyseliny. Dochází tak k tzv. ztužování tuků.

Tuky i oleje mohou být hydrolyzovány za vzniku glycerolu a tří mastných kyselin. Pokud tato hydrolýza bude probíhat za přítomnosti alkalických hydroxidů, např. hydroxidu sodného, produktem takovéto reakce bude mýdlo a celý proces pak nazýváme **zmýdelnění**.



Obr.7. Zmýdelnění účinkem hydroxidu sodného.

3.1 Důkaz tuků

a) mastnou skvrnou

Pomůcky a chemikálie:

Kancelářský papír, skleněná tyčinka, závaží (200 g).

Živočišný tuk, semena obsahující tuk (řepka olejná, mák, ořechy).

Postup práce:

List papíru složte na polovinu. Skleněnou tyčinkou kápněte na papír nejprve kapku vody, potom velmi malé množství tuku. Mezi složený papír vložte semena obsahující tuk a závažím je přitlačte. Papír podržte proti světlu.

Pozorování a vysvětlení:

Ve všech případech papír ztmavne a při podržení proti světlu je průsvitný. Skvrna od vody rychle schne - nezůstanou po ní žádné stopy, zatímco mastné skvrny zůstávají.

Poznámka: Po přidání roztoku Sudan III se tukové, příp. olejové skvrny na papíře zbarví červeně.

Tuky jako zásobní látky uložené v rostlinných částech, zejména v semenech, můžete nejjednodušším způsobem dokázat "mastnou skvrnou". Voda a éterické oleje z papíru rychle vyprechají, odpaří se a papír zůstane bez skvrn. Skvrny po tučích a mastných olejích zůstávají.

b) v semenech slunečnice

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavka, třecí miska s tloučkem.

Nažky slunečnice, 70% roztok ethanolu, glycerol, alkoholový roztok Sudanu III, destilovaná voda.

Postup práce:

Nažky slunečnice zbavte oplodí a několik oloupaných semen rozdrťte v třecí misce. Drť spláchněte teplou destilovanou vodou do zkumavky a dobře protřepte. Potom přidejte alkoholový roztok Sudanu III a nechejte stát.

Pozorování a vysvětlení:

Vrstvička tuku na hladině je červeně zbarvená. Barvivo Sudan III se rozpouští v alkoholu, ale mnohem lépe v tucích, proto přejde do tukové vrstvy a zbarví ji. Tuky jsou triglyceridy vyšších mastných kyselin, z kterých pro tvorbu tuků je nejdůležitější kyselina palmitová, stearová, olejová. Pokud v semenech převládá kyselina olejová, jsou tuky kapalné (oleje). Lisováním semen slunečnice se získává slunečnicový olej, který se používá při přípravě pokrmů.

c) v ořechách**Pomůcky a chemikálie:**

Filtrační papír, 2 malé skleněné vaničky, kádinka, nůžky.
Oloupané ořechy, alkoholový roztok Sudanu III nebo mletá červená paprika.

Postup práce:

Oloupané ořechy rozmačkejte mezi dvěma filtračními papíry. Zbytky semen odstraňte. Filtrační papír, na kterém se objevila mastná skvrna, ponořte do vaničky s nasyceným roztokem Sudanu III v ethanolu. Barvivo nechejte asi 2 minuty působit. Potom papír ve druhé vaničce promyjte v ethanolu a opláchněte pod tekoucí vodou.

Pozorování a vysvětlení:

Mastná skvrna na papíře, která vznikla rozmačkáním semen, se Sudanem III zbarvila na červenou.

Semena jsou zásobárnou tuků, které se po rozmačkání vpily do papíru. Mastná skvrna je viditelná proti světlu. Sudan III jako organické barvivo je lépe rozpustný v tucích než v ethanolu, a proto olejová skvrna zůstala zbarvená na červenou.



Obr. 8 Důkaz obsahu tuků v ořechách

d) v buňkách kvasinek**Pomůcky a chemikálie:**

Kádinka, potřebu na mikroskopování.
Kvasnice, alkoholový roztok Sudanu III.

Postup práce:

V malé kádince připravte mléčně zbarvenou suspenzi kvasnic. Kapku suspenze přeneste na podložní sklíčko a přidejte kapku roztoku Sudanu III. Nechejte působit několik minut. Připravte mikroskopický preparát a při vhodném zaclonění kondenzoru pozorujte objektivem při zvětšení 45 až 60krát.

Pozorování a vysvětlení:

V buňkách kvasinek najdete červeně zbarvené kapičky. Červená barva dokazuje přítomnost tuku.

Kvasinka je výborný pokusný objekt. Ve 100 g kvasinek je asi 1,3 g tuku.

3.2 Rozpustnost tuků

Pomůcky a chemikálie:

4 zkumavky, stojan na zkumavky, tvrdá tužka.

70% roztok ethylalkoholu, diethylether, benzín, voda, jedlý olej.

Postup práce:

Zkumavky označte tužkou číslicemi I - IV. Do každé zkumavky dejte 0,5 ml jedlého oleje. Potom do zkumavky I přidejte 5 ml vody, do zkumavky II 5 ml ethylalkoholu, do zkumavky III 5 ml diethyletheru a do zkumavky IV 5 ml benzínu. Obsah všech zkumavek promíchejte. Pozorujte, zda se olej rozpouští.

Pozorování a vysvětlení:

Olej se rozpouští při promíchání v diethyletheru a v benzínu. Ve vodě se nerozpouští vůbec, v ethylalkoholu je rozpustný jen za horka. Olej se při promíchání v těchto rozpouštědlech jen rozptýlí na kapičky (emulguje), potom se ale od vody opět oddělí.

3.3 Změny při žluknutí tuků

Pomůcky a chemikálie:

2 zkumavky, pipeta, nůž, skleněná tyčinka, váhy, kádinka, elektrický vaříč, modrý lakmusový papírek, stříčka.

Čerstvé a žluklé staré máslo, technický líh.

Postup práce:

V 5 ml technického lihu rozpustíte v jedné zkumavce 1 g čerstvého másla a v druhé zkumavce 1 g žluknutého staršího másla.

Zkumavky vložte do vodní lázně. Do zkumavek vložte vlhký lakmusový papírek tak, aby byl ponořený do roztoku ve zkumavce.

Pozorování a vysvětlení:

Po chvíli sledujeme změnu barvy modrého lakmusového papírku, ponořeného do druhé zkumavky s rozpuštěným žluknutým máslem, na červenou. Tuky jako estery vyšších karboxylových kyselin působením tepla, světla, za přítomnosti vody, mikroorganismů a vzduchu žluknou. Nastává proces jejich oxidace vzdušným kyslíkem na dvojnásobné vazby nenasycených karboxylových kyselin, přičemž se štěpí uhlovodíkové řetězce. Takto vznikají různé aldehydy, ketony a nižší karboxylové kyseliny, které způsobují změnu barvy indikátoru.

3.4 Stanovení množství vody tučích

Voda se v tučích stanovuje jako sušina (vlhkost). Vlhkost se stanoví jako úbytek na váze sušením vzorku při 130°C a odvážením zbytku.

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka, teploměr, skleněná tyčinka, písková lázeň, analytické váhy, exsikátor. Vzorek - sádlo (příp. ztužený tuk, máslo, olej).

Postup práce:

Do suché a zvážené kádinky navažte 20 g vzorku. Potom ji opatrně zahřejte na pískové lázni za stálého míchání tyčinkou, až se přestanou vyvíjet bublinky odpařované vody. Když teplota vzorku dosáhne teplotu 125°C, udržujte ji ještě 5 min. v rozpětí 125 - 130°C. Po vychladnutí v exsikátoru vzorek v kádince zvažte a podle následujícího vzorce vypočítejte množství vody:

$$v = \frac{b}{a} \cdot 100$$

kde v = množství vody v procentech,

a = navážka vzorku v g,

b = úbytek na váze v g.

3.5 Tuky v mléce

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavka, stojan na zkumavky, držák na zkumavky, lihový kahan, stříčka (10 cm³), nůžky, pipeta, zápalky.

Plnotučné mléko, ether nebo ethanol.

Postup práce:

Zkumavku naplňte 5 cm³ plnotučného mléka, na to navrstvěte 1 cm³ alkoholu a směs zahřívejte asi minutu. Po ochlazení zkumavky vodou přidejte 4 cm³ etheru a silně protřepte. Potom počkejte, až se fáze opět oddělí. Vrstvu etheru obsahující tuk odsajte stříkačkou a nakapejte na filtrační papír.

Pozorování a vysvětlení:

Na filtračním papíře zůstane dobře viditelná mastná skvrna. Tuky nacházející se v mléce jsou rozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech. Na základě této vlastnosti je lze izolovat.

Poznámka: Mastnou skvrnu na papíře můžeme zviditelnit organickým bavivem Sudan III.

3.6 Olejová sopka

Pomůcky a chemikálie:

Odpařovací miska, lžička na chemikálie, 10 cm³ kalibrační baňka, velká kádinka. Červená paprika, pokrmový olej, saponát nebo mýdlový roztok.

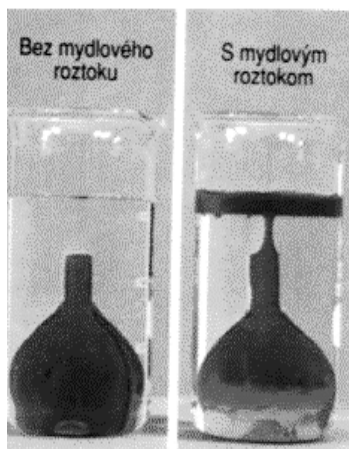
Postup práce:

V porcelánové odpařovací misce smíchejte olej se lžičkou mleté červené papriky. Množství oleje zvolte podle objemové velikosti baňky, kterou je třeba úplně naplnit barevnou olejovou směsí. Baňku naplněnou barevnou směsí ponořte do kádinky se studenou vodou, tak aby hrdlo baňky bylo aspoň 4 cm pod hladinou vody. Potom přikápněte na povrch hladiny pár kapek saponátu.

Pozorování a vysvětlení:

Olej, který je lehčí než voda, působením saponátu začne vystupovat na hladinu, což vypadá jako proud sopečné lávy.

Mýdlový roztok nebo saponát snižuje povrchové napětí na rozhraní vody a oleje. Olej má menší hustotu než voda, ale napětí na rozhraní zabrání vyplavení oleje z baňky ponořené ve vodě. Tento princip se využívá při odstraňování nečistot. Snižováním povrchového napětí se smáčí povrch nečistoty, což umožňuje její uvolnění do roztoku a tím i její odstranění.

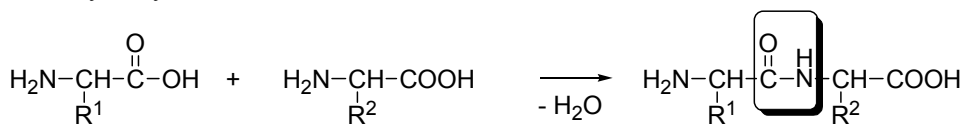


Poznámka: Je důležité, aby okraj baňky byl minimálně 4 cm pod hladinou vody, protože jinak není pokus efektivní. Voda z chladničky má vyšší povrchové napětí, čímž se také zvyšuje efektivita pokusu. Je důležité, aby menší baňka měla úzké hrdlo. Obě nádoby musí být čisté. Baňku můžeme nahradit lahvičkou od léků z bílého skla se zúženým hrdlem.

4. BÍLKOVINY

Bílkoviny (proteiny) jsou přírodní makromolekulární látky, které najdeme v každém živém organismu. Tak jako existuje mnoho rozličných typů bílkovin, tak se liší i jejich biologické funkce. Jsou stavebním materiálem každého živého organismu, plní funkci transportní, katalytickou, regulační, ochrannou a také zajišťují pohyb.

Základním stavebním kamenem všech proteinů jsou aminokyseliny, sloučeniny vyznačující se přítomností dvou funkčních skupin, bazické aminoskupiny i kyselá karboxylová funkce. Z pohledu chemického složení rozlišujeme 4 strukturální úrovně. Primární, sekundární, terciární a kvartérní strukturu bílkovinného řetězce. **Primární struktura** je dána pořadím (sekvencí) jednotlivých aminokyselin v peptidovém řetězci. Jednotlivé aminokyseliny jsou vázány tzv. **peptidovou vazbou**, která se vytváří spojením karboxylové skupiny jedné aminokyseliny a aminoskupiny druhé aminokyseliny.



Obr.10. Vznik peptidové vazby mezi dvěma aminokyselinami.

Sekundární struktura udává uspořádání jednotlivých úseků (segmentů) peptidového řetězce. Na terciární strukturu pohlížíme jako na trojrozměrné uspořádání celého peptidového řetězce. Kvartérní struktura udává způsob, jakým je několik bílkovinných molekul spojeno do velkých shluků (agregátů). Bílkoviny dělíme do dvou hlavních skupin. Jednoduché a složené. Makromolekuly jednoduchých bílkovin (albuminy, globuliny) jsou složeny pouze z aminokyselin navzájem spojených peptidovými vazbami, kdežto složené bílkoviny (konjugované proteiny) obsahují ve své struktuře i další složky, např. sacharidy, kyselinu fosforečnou či tuky. Některé bílkoviny jsou stavební složkou zvířecí srsti, pojivové tkáně či šlach (kolageny), cév (elastiny), kůže, peří, vlasů nebo nehtů (keratiny). Jiné proteiny jsou nezbytné pro srážení krve (fibrinogen), pro správnou regulaci metabolismu glukosy (insulin), myosin a aktin jsou obsaženy ve svalové tkáni. Funkce všech bílkovin je podmíněna jejich strukturou. Vzhledem k faktu, že bílkoviny jsou velmi citlivé na teplo, již při teplotě 60°C dochází k narušení vodíkových vazeb a rozvinutí šroubovitě struktury, bílkoviny ztrácí svou funkci. Za vyšších teplot se bílkoviny mohou srážet, koagulovat a dochází k tzv. denaturaci bílkovin.



Obr.11. Albumin - <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/chitose/images/2-albumin-molecule.jpg>

Ke kvantifikaci proteinů slouží celá řada metod, některé z nich jsou založeny na reakcích bílkovin s ionty mědi jako např. biuretová reakce, některé např. na tzv. ninhydrinové metodě. Konkrétní příklady budou podrobněji popsány v experimentální části.

4.1 Denaturace bílkovin vaječného bílku

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka, lžička, zkumavky, držák na zkumavky, lihový kahan, stojan na zkumavky. Vejce, voda, 30% vodný roztok modré skalice ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$).

Postup práce:

Z vejce oddělte vaječný bílek a rozpusťte ho v kádince ve 100 cm^3 vody.

Do tří zkumavek si připravte asi po 5 cm^3 roztoku vaječného bílku. Potom do první zkumavky přidejte malé množství roztoku modré skalice, do druhé zkumavky přilijte ethanol a obsah třetí zkumavky jemně zahřívejte nad kahanem. Pozorujte změny ve zkumavkách.

Pozorování a vysvětlení:

V roztoku vaječného bílku v první zkumavce se působením modré skalice vytvořila bleděmodrá sraženina. Roztok v druhé zkumavce se po přidání ethanolu zakalil a stejně se zakalil i obsah třetí zkumavky, kterou jsme zahřívali. Bílkoviny obsažené ve vaječném bílku (obsahuje 12% bílkovin, přičemž 70% z nich tvoří vaječný albumin) reagují citlivě na soli těžkých kovů, ethanol i na zvýšenou teplotu. Organickými rozpouštědly (např. ethanol) a některými solemi (např. CuSO_4) se bílkoviny vratně srážejí. V případě působení vysoké teploty nastává u bílkovin denaturace, při které se naruší terciární struktura, aktivní místa ztrácejí své specifické prostorové uspořádání a tím se snižuje nebo ztrácí biologická aktivita bílkoviny. Denaturace je nevratná reakce. Působením těžkých kovů, příp. vysokých teplot se tedy naruší struktura bílkovin, přičemž ty pak už neplní svou funkci v organismu.

Likvidace zplodin:

Produkty vznikající při uvedeném pokusu nejsou zdraví škodlivé. Všechno sklo můžeme vymývat přímo vodou do výlevky.

Zvýšenou pozornost věnujeme zahřívání třetí zkumavky, zahříváme pomalu.

4.2 Štěpení disulfidických vazeb působením vysoké teploty

Pomůcky a chemikálie:

Varič, kádinka, nůž.

2 vejce, voda.

Postup práce:

Na variči uvařte běžným způsobem dvě vejce na tvrdo (přibližně 10 minut). Jedno vejce potom prudce ochlaďte ve studené vodě a druhé nechte volně vychladnout na vzduchu. Pozorujte, čím se vejce liší.

Pozorování a vysvětlení:

Z vejce, které jsme zchladili ve vodě, se skořápka loupe mnohem snáze než z vejce, které chladlo pozvolna na vzduchu. Po rozřezání pozvolna chladnoucího vejce objevíme na povrchu žloutku zelenkavý povlak, který se u rychle zchlazeného vejce nenalézá. Ne jen vaječný bílek, ale i žloutek obsahuje bílkoviny (15–17%). Kromě nich se ve žloutku nacházejí hlavně tuky (28–36%) a voda (47–50%). Základní vazbou, kterou jsou bílkoviny tvořeny z aminokyselin, je peptidová vazba (CO-NH). Kromě této vazby se v řetězcích bílkovin nacházejí i jiné typy vazeb. Jsou to zejména disulfidické vazby, kterými jsou pospojované různé části jednoho nebo více peptidických řetězců. Tyto příčné vazby se mohou působením vysokých teplot rozpadat, a proto se při vaření ve vejci tvoří sulfan (H_2S). V rychle zchlazeného vejci se plyn nahromadí až pod skořápkou, kde plynová vrstvička usnadňuje loupání skořápky. V pozvolna chladnoucím vejci se ionty síry váží s ionty železa, které jsou obsažené ve vaječném žloutku a tvoří se tmavá vrstva železnaté soli.

Likvidace zplodin:

Zvýšenou opatrnost věnujeme manipulaci s horkými předměty.

Sulfan se tvoří jen v nepatrném množství, které není zdraví škodlivé.

4.3 Izolace bílkovin z mléka

Pomůcky a chemikálie:

Kádinky (sklenice od dětské výživy), zkumavka, nálevka, filtrační papír (filtr na kávu), lžička, držák na zkumavky, kahan.

Mléko, 8% roztok kyseliny octové (CH_3COOH) - ocet.

Postup práce:

Asi 50 cm^3 mléka naředte v kádince stejným množstvím vody a přikapejte k němu několik kapek roztoku kyseliny octové (octa). Promíchejte a vzniklou sraženinu odfiltrujte. Filtrát zahřejte nad kahanem a pozorujte změny, které v něm probíhají.

Pozorování a vysvětlení:

Přikapáním kyseliny octové se v mléku tvoří bílá sraženina. Po jejím odfiltrování můžeme pozorovat, že lepší papír. Ve filtrátu se při zahřátí tvoří opět bílá sraženina (roztok se zakalí). Kravské mléko obsahuje 3,3% bílkovin. Kromě bílkovin se v mléku nachází také mléčný cukr a mléčné tuky. Z jednotlivých bílkovin se v mléku nachází zejména kasein a mléčný albumin. Bílkovina kasein (patří mezi fosfoproteiny) se v čerstvém mléku nachází vázaný s ionty Ca^{2+} . Přidáním kyseliny octové (ocet je její zředěný roztok) se změní pH roztoku na takovou hodnotu, při které se dosáhne tzv. izoelektrického bodu kaseinu ($\text{pI} = 4,6$) a vysráží se bílá sraženina - volný kasein, který je téměř úplně bez vápníku. Po jejím odfiltrování zůstane ve filtrátu další bílkovina - mléčný albumin. Ten je rozpustný ve vodě a sráží - denaturuje se - při 65°C .

Likvidace zplodin:

Produkty pokusu nejsou zdraví škodlivé. Sklo můžeme vymýt vodou přímo do výlevky. Zvýšenou pozornost věnujeme zahřívání zkumavky s filtrátem nad kahanem.

4.4 Barevné reakce bílkovin

Makromolekulu bílkovin tvoří řetězec aminokyselin. Barevné reakce způsobují radikály, které se na peptidových vazbách nezúčastňují, proto tyto reakce nejsou přísně specifické. Výjimku tvoří biuretová reakce, která je naopak pro peptidové vazby charakteristická.

Příprava extraktu bílkovin z bramborové hlízy:

Oloupanou syrovou bramboru nastrouhejte a v třecí misce roztírejte několik minut. Kašovitou hmotu vložte do hadříku a vytlačte z ní kalnou šťávu. Přefiltrujte ji přes skládaný filtr.

Příprava roztoku bílku:

Vaječný bílek dobře rozmíchejte se 150 cm^3 vody a přefiltrujte přes skelnou vatu.

! Při všech následujících pokusech proveďte kontrolní pokus s roztokem bílku !

a) Biuretová reakce

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavka s extraktem bílkoviny, skleněná tyčinka.
1% roztok CuSO_4 , 20% roztok KOH .

Postup práce:

Do 1 cm^3 extraktu ve zkumavce přidejte 1 cm^3 roztoku KOH a opatrně po kapkách přidávejte roztok CuSO_4 .

Pozorování a vysvětlení:

Obsah zkumavky se zbarvil modrofialově - což je důkazem přítomnosti bílkovin. Název "biuretová reakce" je odvozený od biuretu, který vzniká zahříváním močoviny, přičemž se uvolňuje amoniak. Vznikající biuret má peptidovou vazbu, proto i v případě bílkovin, přestože biuret neobsahují, je reakce pozitivní.

b) Xantoproteinová reakce

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavka s extraktem bílkoviny, skleněná tyčinka.
Koncentrovaná kyselina dusičná HNO_3 , vodný roztok amoniaku.

Postup práce:

Do 2 cm^3 extraktu přidejte 1 cm^3 koncentrované kyseliny dusičné HNO_3 . Roztok zahřejte. Obsah zkumavky se zbarví na žluto, případně vznikne žlutá sraženina. Zkumavku ochlaďte a roztok zneutralizujte amoniakem.

Pozorování a vysvětlení:

Žlutá barva se změní na oranžovou. V molekule bílkovin jsou vázány aromatické aminokyseliny (fenylalanin, tryptofan, tyrosin) s benzenovým jádrem. Jádro se kyselinou dusičnou HNO_3 nitruje za vzniku na žluto zbarvených sloučenin.

c) Raspailová reakce

Pomůcky a chemikálie:

Zkumavka s extraktem bílkoviny, 2 skleněné tyčinky.
Koncentrovaná kyselina sírová H_2SO_4 , koncentrovaný roztok sacharózy.

Postup práce:

Do zkumavky s extraktem přidejte několik kapek koncentrovaného roztoku sacharózy a stejné množství kyseliny sírové H_2SO_4 .

Pozorování a vysvětlení:

Zkoumaný extrakt se zbarví na červeno (příp. až purpurově). Je to průkazná, i když ne zcela specifická reakce na bílkoviny.

Likvidace zplodin:

Produkty vznikající při uvedených pokusech můžete vymývat přímo vodou do výlevky.

4.5 Důkaz přítomnosti bílkovin v semenech hrachu

Pomůcky a chemikálie:

Suchá semena hrachu, třecí miska, kádinka, zkumavky, stojan na zkumavky, kapátko, nálevka, filtrační papír.

2% roztok hydroxidu draselného KOH, kyselina octová CH₃COOH, ethanol CH₃CH₂OH, destilovaná voda.

Postup práce:

Suchá semena hrachu důkladně rozetřete v třecí misce a moučku nasypete do kádinky. Hrachovou moučku zalijte 50 cm³ vody a 5 cm³ 2% roztoku KOH. Za hodinu přefiltrujte. Do první zkumavky s 5 cm³ filtrátu opatrně přikapávejte kyselinu octovou, do druhé zkumavky s 5 cm³ filtrátu přilijte malé množství ethanolu.

Pozorování a vysvětlení:

Ve slabě alkalickém roztoku se bílkoviny rozpouštějí. Když neutralizujete filtrát zředěnou kyselinou octovou, bílkoviny se srážejí. Když ve filtrátu bude větší množství kyseliny, bílkoviny se opět rozpustí. Na rozdíl od koagulace varem (koagulaci se mění vlastnosti bílkovin - denaturují - jde o ireverzibilní děj) je v tomto případě srážení bílkovin děj reverzibilní. Pokud do filtrátu přidáte ethanol, vznikne nerozpustná sraženina.

4.6 Posun rovnováhy při srážení bílkovin

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka (sklenice od majonézy), lžička.

Mléko, hydrogenuhličitan sodný (NaHCO₃), 8% roztok kyseliny octové (CH₃COOH) - ocet.

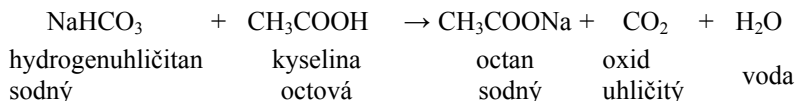
Postup práce:

Do kádinky, v které je 50 cm³ mléka nasypete asi 2 lžičky hydrogenuhličitanu sodného (sody bikarbóny). Dobře promíchejte a potom přikapejte roztok kyseliny octové (ocet). Pozorujte změny.

Pozorování a vysvětlení:

Pokud je v mléku rozpuštěný hydrogenuhličitan sodný, bílkoviny v mléku se po přidání roztoku kyseliny octové nevysrážejí. Roztok v kádince bouřlivě pění, ale sraženina nevzniká.

Kyselina octová (ocet), kterou přikapáváte do roztoku, reaguje s hydrogenuhličitanem sodným. Proto se kasein nesráží.



Při reakci vzniká oxid uhličitý, který způsobuje bouřlivé pění.

Likvidace zplodin:

Produkty pokusu nejsou zdraví škodlivé. Sklo můžete vymýt vodou přímo do výlevky.

4.7 Bílkoviny v mouce

Pomůcky a chemikálie:

Kádinka (širší skleněná miska), husté plátno, papír.

Mouka, voda.

Postup práce:

Na husté plátno nasypete asi 5 lžiček mouky (polohrubé) a zabalte ji. Balíček proplachujte vodou do té doby, dokud vzniká mléčně bílý roztok. Pozorujte, co zůstane na plátně.

Pozorování a vysvětlení:

Na plátně zůstává nažloutlá hmota, která lepí papír. V pšeničné mouce je asi 10 - 15% bílkovin. Mezi nejdůležitější bílkoviny pšenice patří gliadin a glutenin, které tvoří tzv. lepek, tj. nabobtnalou, pružnou a tažnou hmotu, která se získá vypíráním mouky slabým proudem vody.

Lepek je složený z těchto složek: gliadinu (43%), gluteninu (39%), z jiných bílkovin (4%), tuku (3%), cukrů (2%) a škrobu (6%).

4. Závěr

V tomto příspěvku jsme se pokusili čtenáře seznámit s přírodními látkami kolem nás, jejich vlastnostmi a vybranými chemickými reakcemi. Některé informace už znali ze školy, některé pro ně byly nové. Každá kapitola začíná teorií, která je doplněna zajímavými experimenty. Experimenty byly voleny tak, aby ilustrovaly charakteristické vlastnosti přírodních látek a sloužily tak k lepšímu pochopení dané problematiky. Jejich prostřednictvím si mohou studenti nové vědomosti ověřit v praxi.

5. Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu OPVK „Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědecko-výzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

6. Použitá literatura

1. Gajanová, M. *Chémia nás živí: Bielkoviny v bežnom živote Sacharidy v bežnom živote, Tuky v bežnom živote*. [online] Dostupné na <http://kekule.science.upjs.sk/chemia/distanc/index.html>
2. Straka, M., *Kouzelnické pokusy z chemie*. [online] Dostupné na <http://lide.uhk.cz/pdf/student/psopatp1/Chemie/Pokusy.pdf>
3. Míka, L. *Faraonův had. Časopis ABC, ABC 19/2004* [online] Dostupné na <http://abc.blesk.cz/clanek/casopis-abc/5725/faraonuv-had.html>
4. Stýskala, J. a kol. *Cvičení z organické chemie*. 3., upravené vydání. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2010. 123 s. ISBN 978-80-244-2602-0.
5. J. McMurry: *Organická chemie*, VUTIUM Brno a VŠCHT Praha 2007.

VODA KOLEM NÁS

Pavlna Baizová¹, Pavlna Ginterová¹, Tatjana Nevěčná²

¹*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc; e-mail: pavlina.baizova@upol.cz*

²*Katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc*

Úvod

Voda je jednou z nejdůležitějších složek života. V poslední době je z důvodu zvětšujícího se znečištění přírodních a užitkových vod (např. vodami splaškovými či průmyslovými) kladen větší důraz na analýzu vod. Z tohoto důvodu je hlavním cílem kapitoly seznámit (nejen) středoškolské studenty s problematikou týkající se analýzy vybraných parametrů vody tak, aby ji mohli využít pro studium problematiky vody v různých souvislostech (význam vody pro zdraví, ochrana životního prostředí apod.)

V následujících podkapitolách se studenti mohou seznámit se základními teoretickými znalostmi zahrnujícími rozdělení druhů vod, organoleptické a fyzikální vlastnosti vody a obecné složení vod. Teoretické základy jsou doplněny o praktickou část popisující stanovení vybraného parametru ve vzorku vod, které je možno uskutečnit v laboratoři a/nebo přímo v terénu. Při výběru vhodných metod byla zohledněna především manuální zručnost středoškolských studentů, časová náročnost a potřebné laboratorní vybavení.

Pro stanovení vybraných parametrů vod byly zvoleny jak metody klasické (titrační metody), tak metody instrumentální (např. potenciometrie, konduktometrie, tenkovrstevná chromatografie). Studenti mají možnost setkat se s metodami kvalitativními i kvantitativními (popř. semikvantitativními).

1. Druhy vod

Druhy vod můžeme rozlišovat podle několika parametrů, kterými jsou původ, výskyt a použití. Podle původu můžeme dále vody dělit na vody přírodní a odpadní (splaškové a průmyslové). Podle výskytu jsou přírodní vody děleny na atmosférické, povrchové a podzemní. Dále je možné vody dělit podle jejich použití na vody pitné, užitkové, provozní a odpadní. Chemické složení přírodních vod závisí na mnoha faktorech. Rozdělení přírodních vod je uvedeno spolu s vlivem na jejich chemické složení v tabulce 1. Rozdělení vod podle jejího použití je uvedeno v tabulce 2.

Tab. 1 Rozdělení přírodních vod

Druh vody		Vliv na chemické složení	Poznámka
Atmosférická veškerá voda v ovzduší		Znečištění ovzduší ve spodní a střední vrstvě atmosféry.	Základní chemické složení kvalitativně odpovídá složení podzemních a povrchových vod
Podzemní - voda přírozně se vyskytující v horninovém prostředí		Složení půd a hornin, složení srážkových a povrchových vod v dané oblasti.	Dominujícími kationty jsou především vápník, sodík a hořčík. Dominujícími anionty jsou hydrogen-uhličitany, sírany a chloridy.
Minerální - podzemní voda překračující limitní koncentrace vybraných složek		Složení půd a hornin, složení srážkových a povrchových vod v dané oblasti.	Další dělení minerálních vod: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Přírodní minerální voda</i> • <i>Přírodní léčivé voda</i> • <i>Přírodní minerální voda stolní</i>
Povrchová voda	Kontinentální - voda přírozně se vyskytující na zemském povrchu <ul style="list-style-type: none"> • tekoucí (vodní toky) • stojaté (jezera, nádrže, rybníky) 	Geologickou skladbou podloží, klimatickými a půdně botanickými poměry, antropogenní činností.	Základní kvalitativní složení je podobné složení podzemní vody.
	Mořská - voda všech oceánů a moří	Sezónní změny a vertikální zonace. Poměr mezi hlavními složkami je stálý.	Charakteristická je vysoká koncentrace chloridů, sodíku, hořčíků a síranů.

Tab. 2 Rozdělení vod podle jejich použití

Druh vody	Obecné požadavky na jakost	Poznámka
Pitná - voda zdravotně nezávadná	Nejdůležitější je hledisko zdravotní nezávadnosti (nesmí být především fekálně znečištěna).	Během analýzy pitné vody je pohlíženo na několik ukazatelů jakosti: organoleptické, fyzikální a chemické, žádané toxické a mikrobiologické.
Užitková - hygienicky nezávadná voda, která není určena k pití a vaření	Z hygienického hlediska jsou na jakost kladeny stejné požadavky jako na vodu pitnou.	V některých případech je možné užitkovou vodu použít k napájení hospodářských zvířat.
Provozní - voda sloužící pro různé výrobní a nevýrobní účely	Kromě obecných požadavků na jakost mohou být kladeny i požadavky specifické (podle účelu použití).	Nevhodná jakost provozní vody může mít za následek např. korozi zařízení a zhoršení kvality výrobků.
Odpadní - voda, jejíž kvalita byla zhoršena lidskou činností	Nesmí být překročeny limity znečištění odpadních vod, které jsou vypouštěny do stokové sítě.	Vodu odpadní lze rozdělit do tří skupin – splaškové, městské a průmyslové.

1.1. Příprava pitné vody v terénu

Historie chemických úprav pitné vody sahá až do let před naším letopočtem, kdy staří Římané využívali stříbro ke konzervaci konzumní vody na cestách. Od 19. století se k sanacím veřejných vodovodních sítí používá chlor. Dnes se procesy chemické úpravy vody spolu s pravidelným monitoringem využívají prakticky ve všech městských oblastech rozvinutých států světa. Přesto existuje enormní množství vodních zdrojů (ať už ve venkovských lokalitách civilizovaných zemí nebo v neosídlené přírodě kdekoli na světě), které nejsou pravidelně nebo vůbec kontrolovány a musejí být ošetřovány individuálně.

Pro přípravu bezpečně pitné vody v terénu existuje řada preparátů, ale zde se zaměříme na jednoduchou přípravu pitné vody v přírodě.

Pro přežití v přírodě je voda nejdůležitější. Bez jídla člověk vydrží v případě nouze i několik týdnů, bez vody maximálně pár dnů. Je to spojeno s tím, že člověk při běžné

činnosti vyloučí 2 – 3 litry vody denně i v klidu a ve stínu přichází denně o 1 litr vody. Proto je pro přežití nutné vodu organismu dodávat. Samozřejmě nejde pouze o problém úbytku vody, ale problém je daleko komplexnější, minimálně je spojen se změnou koncentrace důležitých iontů v organismu apod.

V přírodě je možno použít vodu z různých zdrojů (ale vždy je nutno tuto vodu před použitím upravit):

- ze studánek, vodních toků, jezer
- déšť, sníh, led, rosa
- stromy, rostliny
- z mořské vody

Základním způsobem dezinfekce každé vody je převaření. Tato nejstarší metoda je sice velmi účinná, ale poměrně časově a energeticky náročná. Vzhledem k tomu, že vodní patogeny mají různou dobu životnosti, je třeba nechat vodu vařit delší dobu. Většina choroboplodných zárodků je zničena v našich podmínkách po 5 minutách varu. Nevýhodou je, že se takto neodstraní zákal ani chemické látky.

Jak jednoduše získat pitnou vodu v přírodě bez jakékoliv chemie?

V přírodě je možno získat jednoduše pitnou vodu na základě vypařování a zpětné kondenzace. Takto získaná voda bude vždy pitná – proces vypařování a následujícího zkapanění se nazývá destilace (takováto voda je prostá všech minerálních látek).

Vodu můžeme získat např. **odpařením z rostlin**. Do igelitového pytle dejte zelené části rostlin, listů, drobné větve, dobře zavažte a položte na zvlněný terén tak, aby část pytle, která je bez materiálu, byla níže. Přes den (nejlépe na sluníčku) dojde k vypařování vody z rostliny a přes noc, kdy se ochladí voda, zkondenzuje a hromadí se v nižší části pytle. Ráno máte pitnou vodu. Obdobně je možno uvázat igelitový pytel na zelenou větev a větve ohnout, aby kondenzovaná voda stékala do cípu pytle.

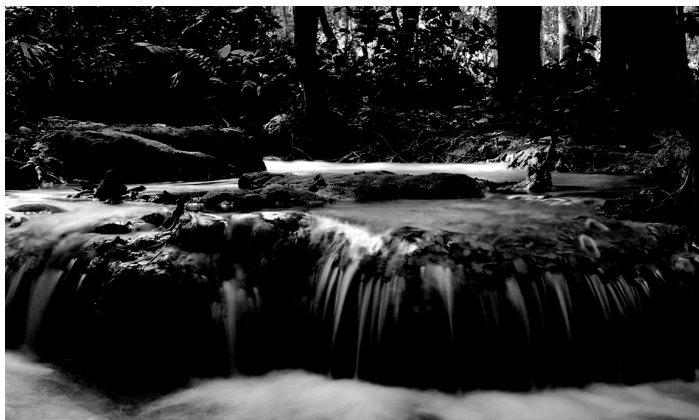
V místech, kde nejsou rostliny, je možno si připravit pitnou vodu následujícím způsobem:

Na volném prostranství vyhloubíme jámu, na jejíž dno dáme nádobku. Celé přikryjeme igelitem, který zatížíte kameny, dobře utěsněte hlinou. Doprostřed igelitu nad nádobu dejte kámen, který zajistí, aby kondenzovaná voda kapala do nádoby. Igelit se nesmí dotýkat stěn jámy, jinak vysrážená voda se ztratí v zemi. Takto je možno přechistit i silně znečištěnou vodu.

Pokus

Do nádoby (větší plocha) se znečištěnou vodou dáme doprostřed hrneček a celou nádobu překryjeme igelitem či celofánem, který vypneme a na okrajích nádoby připevníme izolepou. Doprostřed igelitu (nad hrneček) dáme kámen, aby se igelit prohnul. Nádobu dáme na sluníčko. Do hrníčku se bude shromažďovat odpařená a zkondenzovaná voda.

Obdobného principu se dá využít při **získávání pitné vody z vody mořské** (slané). Například na lodích se používají zařízení pro přípravu pitné vody, která mají překvapivě jednoduchou konstrukci. Jedná se v podstatě o černě natřený mělký bazének zakrytý sklem se sběrným žlábkem na vodu. Dopadající sluneční záření zahřívá vodu a její páry kondenzují na chladnějším skle a stékají do žlábků a odtud do zásobní nádoby.



Obr. 1 Voda v přírodě

2. Organoleptické a fyzikální vlastnosti vody

Mezi organoleptické vlastnosti vody patří teplota, barva, zákal, pach a chuť. Organoleptické vlastnosti jsou takové, které jsou zjistitelné smyslovými orgány (zrak, čich, chuť) tzv. senzoricou analýzou. Výsledky jsou tedy závislé na zkušenosti a vnímavosti hodnotitele. Senzorické zkoumání vody je důležité, protože některé typy sloučenin působí smyslové obtíže v koncentracích nižších, než je analytická mez stanovitelnosti. Kromě senzoricke analýzy můžeme některé organoleptické vlastnosti (teplota, barva, zákal) stanovit objektivně instrumentální analýzou.

2.1. Teplota

Teplota patří mezi nejdůležitější organoleptické ukazatele. Velký význam má teplota povrchových vod, protože ovlivňuje rozpustnost kyslíku, rychlost biochemických pochodů, vhodnost prostředí pro výskyt ryb a jiných vodních organismů. Teplota povrchových vod kolísá v průběhu roku podle počasí. Podzemní vody mívají konstantní teplotu, nezávislou na ročním období. Teplota podzemních vod (s výjimkou minerálních) se pohybuje nejčastěji kolem 10 °C. Větší kolísání teploty podzemní vody svědčí o rychlém pronikání povrchových nebo atmosférických vod do podzemí, s čímž souvisí i větší nebezpečí jejich kontaminace. Nejvhodnější teplota pro pitnou vodu je 8 až 12 °C, voda teplejší než 15 °C již neosvěžuje a voda chladnější než 5 °C může poškozovat zažívací trakt.

Měření teploty vody:

Měření teploty vody se provádí pro teplotu vyšší než 0 °C rtuťovým teploměrem s dělením po 0,1 až 0,05 °C nebo elektrickým teploměrem s odporovým nebo termistorovým čidlem.

Teplota se měří vždy současně s odběrem vzorku. Měření se provádí buď přímo pod hladinou vody, nebo ve vzorkovnici (vytemperované na teplotu vzorku) ihned po

odběru. Objem vzorkovnice musí být nejméně 1 litr. Odečet teploty se provádí po ustálení rtuťového sloupce nebo digitálního ukazatele. Výsledky se vyjadřují ve °C a zaokrouhlují se na jedno desetinné místo.

2.2. Barva

Barva čisté vody v průhledu světla do dostatečné hloubky se jeví světle modrá. Zbarvení přírodních vod může být způsobeno obsahem látek huminového charakteru, obsahem železa, koloidními částicemi jílu apod. Vody v přírodních vodních nádržích mohou v období jarní a podzimní cirkulace získat zbarvení ze zvířeného sedimentu. V letním období dochází ve vodních nádržích k rozvoji řas a sinic (tzv. „vodního květu“), tyto organismy způsobují různorodé, nejčastěji zelenožluté zbarvení vody.

Při hodnocení barvy se rozlišuje barva zdánlivá (v původním vzorku je možné ji odstranit filtrací) a skutečná (nelze ji odstranit filtrací). Zdánlivá barva je způsobena koloidními a suspendovanými nerozpuštěnými látkami. Skutečná barva je způsobena rozpuštěnými látkami (např. barviva v odpadních vodách z textilního průmyslu). Při vlastním analytickém hodnocení barvy vody je možné vlastní barvu vody zanedbat.

Vizuální stanovení barvy vody

Barva vzorku vody se vyhodnocuje při rozptýleném světle ve vzorkovnici proti bílému pozadí. Výsledek hodnocení se popisuje podle škály intenzity barvy (žádná, slabá, světlá, tmavá) a podle subjektivně hodnoceného odstínu

Hodnocení barvy povrchové vody je možné formou srovnání s řadou porovnávacích roztoků, které se připravují z hexachloroplatičitanu draselného a chloridu kobaltnatého. Používají se také komparátory, v nichž se barva vody porovnává s barvou různě zbarvených sklíček. Výsledky se vyjadřují jako obsah platiny (v mg) v 1 litru. Intenzita barvy přírodních vod se pohybuje od několika jednotek až do několika set mg l^{-1} Pt. U pitné a kojenecké vody je mezní hodnota barvy 20 mg l^{-1} Pt. Průměrná hodnota barvy pitných vod v ČR je 4 mg l^{-1} Pt.

Stanovení skutečné barvy optickými přístroji

Objektivní hodnocení skutečné barvy vody je možné získat měřením celého spektra ve viditelné oblasti záření (400-780 nm). Pro měření skutečné barvy vody je potřeba odstranit zdánlivou barvu filtrací. Vzorek se filtruje membránovým filtrem o velikosti pórů 0,45 μm . Barevný odstín často závisí na hodnotě pH a teplotě, a proto se tyto hodnoty uvádějí v protokolu výsledků stanovení skutečné barvy.

Tab. 3 Spektrum viditelného světla rozdělené podle barev a odpovídající vlnové délky

Vlnová délka [nm]	Barva	Vlnová délka [nm]	Barva
<i>400-435</i>	fialová	<i>560-580</i>	zelenožlutá
<i>435-480</i>	modrá	<i>580-595</i>	žlutá
<i>480-490</i>	zelenomodrá	<i>595-605</i>	oranžová
<i>490-500</i>	modrozelená	<i>605-730</i>	červená
<i>500-560</i>	zelená	<i>730-760</i>	purpurová

2.3. Zákal

Zákal můžeme definovat jako snížení průhlednosti (transparence) vody nerozpuštěnými látkami. Čiřost vody je jedním ze základních požadavků na jakost pitné a užitkové vody (především pro potravinářský, textilní a papírenský průmysl). Zákal vody může být způsoben anorganickými nebo organickými látkami (zpravidla koloidně dispergovanými), které mohou být přírodního nebo antropogenního původu. Jde např. o jílové materiály, hydratované oxidy kovů (především železa a manganu), bakterie, plankton (řasy a sinice), detrit (jemně dispergované zbytky těl rostlinných a živočišných organismů) atd.

Podzemní vody jsou zakalené jen zřídka a zákal tvoří převážně anorganické látky. Povrchové vody bývají velmi často zakaleny splachem půdních vrstev (jílovými materiály), planktonem a zvířenými dnovými sedimenty. Zákal splaškových odpadních vod je tvořen převážně organickými látkami. I když je zákal způsoben zdravotně nezávadnými látkami, dává vodě nežádoucí vzhled, což je významné zejména při hodnocení jakosti vody pitné a užitkové. Bílý zákal, který někdy dočasně vzniká při vypouštění vody z vodovodního potrubí, je způsoben bublinkami vzduchu, který se uvolňuje z vody v důsledku snížení tlaku a změny teploty vody v potrubí.

Obecně lze metody měření zákalu rozdělit na metody kvantitativní a semikvantitativní. Semikvantitativní metody se používají pro informativní hodnocení zákalu povrchových a odpadních vod v terénu. Semikvantitativně lze stanovit zákal měřením průhlednosti zkušební trubici (tzv. průhledová zkouška) nebo zkušební deskou. V obou případech se udává výška kapaliny, při které je vzor písma, zkušební značka nebo deska jasně patrná při pohledu shora. Kvantitativní hodnocení zákalu se provádí spektrofotometrickým měřením procházejícího (turbidimetrie) (obr. 2 Turbidimetr) nebo rozptýleného záření (nephelometrie).



Obr. 2 Turbidimetr

Měření zákalu zkušební trubici Principem měření je určení výšky sloupce vody, kdy začne být viditelné vzorové písmo nebo zkušební značka. Trubice je 60 cm dlouhá o průměru 2,5 cm s vyznačeným dělením po 1 cm. Před postranním světlem je chráněna krytem. Vzorové písmo nebo zkušební značka jsou černé na bílém podkladu. Trubice se naplní zkoušenou vodou. Hladina se postupně snižuje. Výsledkem je výška sloupce, kdy je vzorové písmo nebo zkušební značka jasně patrná při pohledu shora. Výška sloupce vody se udává s přesností na nejbližších 10 mm.

Měření zákalu zkušební deskou

Principem měření je zjistit hloubku vody, kdy není viditelná bílá deska, připevněná na závěsu s vyznačenými hodnotami délky v cm. Přístroj pro stanovení zákalu povrchových vod je tvořen zkušební deskou, připevněnou na řetízku nebo tyči. Deska se na řetízku nebo na tyči spouští do vody tak hluboko, dokud je při pohledu shora právě postřehnutelná a změří se délka ponořené části řetízku nebo tyče. Zkouška se několikrát opakuje, přičemž postřehnutelnost desky je vhodné zjišťovat jak při pohybu desky shora dolů, tak při pohybu zdola vzhůru. Měření je nutno provádět v místě, kde se sluneční světlo neodráží od hladiny. Výsledky se uvádí v metrech hloubky ponoření desky. Hodnoty menší než 1 metr se uvádějí na nejbližších 10 mm. Výsledky hodnot větších než 1 metr se uvádějí s přesností 0,1 m.

2.4. Pach

Pach vody je způsoben těkavými pachotvornými látkami, které mohou být přírodní součástí vody (rozpuštěné soli nebo plyny v minerálních vodách) nebo mohou být produktem biologických procesů a rozkladu organických látek (vznikají životní činností nebo při odumírání organismů ve vodě). Příčinou pachu mohou být také látky v odpadních vodách z domácností, průmyslu a zemědělství, případně z havárií (ropné

produkty). Koncentrace látek, které způsobují pach, mohou být v některých případech pro jednotlivé sloučeniny i pod mezí stanovitelnosti použitých analytických metod. Pach se stává první informací o přítomnosti takovýchto látek.

Pach je organoleptická vlastnost vody, která může nepříznivě ovlivnit hodnocení jakosti vody, a proto je stanovení pachu nedílnou součástí základního rozboru pitné vody. Pach vody podle svého charakteru může působit i odpudivě. V případě povrchových vod se pach stanovuje přímo na místě. U pitných vod se pach stanovuje smyslovou zkouškou co nejdříve po odběru, nejpozději do 24 hodin. Zkušební teplota je obvykle 20 °C. Při vyšších teplotách bývá intenzita pachu větší, proto se doporučuje provádět také zkoušky při teplotě 60 °C, kdy organoleptické závady více vyniknou. Druh pachu se označuje slovně jako zemitý, fekální, hnílný, plísnivý, rašelinový, po jednotlivých chemikáliích apod. Intenzita pachu se vyjadřuje ve stupních 0-5 (viz Tab. 4).

Tab. 4 Stupně intenzity pachu vody

Intenzita pachu	
0	žádný
1	velmi slabý
2	slabý
3	znatelný
4	zřetelný
5	velmi silný

Stanovení pachu vody:

Do 500 ml Erlenmeyerovy baňky se zábrusovou zátkou se odměří 250 ml vzorku vody. Baňka se uzavře a vytemperuje na 20 °C, potom se baňka několikrát protřepe a po otevření se subjektivně stanoví druh a stupeň pachu. Postup se opakuje při 60 °C.

2.5. Chuť

Většina látek, které způsobují pach vody, ovlivňuje také její chuť. Mezi hlavní anorganické látky s chuťovým účinkem ve vzorku vody patří sloučeniny železa a manganu, hořčík, zinek, měď, chloridy, hydrogenuhličitan, volný oxid uhličitý atd. Chuťové vlastnosti jednotlivých složek závisí jak na jejich koncentraci, tak na vzájemné kombinaci složek přítomných ve vodě. Výrazný vliv na chuť má hodnota pH, nejhodnější je pH= 6,5 až 7,5, nad pH=8 má voda chuť výrazně louhovito-mýdelnou.

Intenzita chuťových vjemů se stoupající teplotou klesá, proto se doporučuje pro senzoričnou analýzu pitné vody teplota asi 15 °C až 20 °C. Posuzují se pouze vzorky pitných vod, které jsou bakteriologicky nezávadné a neobsahují toxické látky. Chuť se hodnotí slovním popisem, vyjadřují se čtyři hlavní druhy chuti (slaná, sladká, hořká, kyselá) a pak převládající příchut' (mýdelná, louhovitá, kovová, svíravá, mdlá, železitá, zatuchlá, zemitá apod.). Intenzita příchuti se vyjadřuje podle stupnice 0-5 (viz Tab. 5).

Tab. 5 Stupnice používající se pro vyjádření intenzity příchutě

	Slovní charakteristika a projev příchutě
0	žádná intenzita
1	sotva znatelná intenzita na jazyce po vyprázdnění úst
2	znatelná intenzita bez doznívání po vyprázdnění úst
3	dobře znatelná intenzita s krátkým i dlouhým dozníváním po vyprázdnění úst
4	silná intenzita v celé ústní dutině se silným a dlouhým dozníváním po vyprázdnění úst
5	extrémní intenzita v celé ústní dutině s velmi silným až bolestivým vjemem, který okamžitě otupí schopnost receptorů

Stanovení chuti vody

Do čistých 50 ml kádinek se připraví vzorek vody vytemperovaný na 20 °C a vyhodnotí se chuťový vjem. Posuzovatel musí mít dostatečné smyslové schopnosti a musí být zdravý, neměl by mít porušený smyslový vjem např. kouřením, požitím kořeněných jídel, alkoholických nápojů apod.

2.6. Konduktivita

Konduktivitou vody rozumíme míru koncentrace rozpuštěných disociovaných látek (iontů) ve vodě. Pomocí konduktivity můžeme tedy vyjádřit přibližný obsah minerálních látek, které jsou ve vodě obsaženy. Konduktivita je nejčastěji uváděna v jednotkách $\mu\text{S}/\text{cm}$ (popř. mS/m). Pokud naměřenou hodnotu konduktivity vynásobíme 0,8 krát, získáme přibližnou hodnotu rozpuštěných látek v mg/L . Hodnoty konduktivity se pro destilovanou vodu pohybují v rozmezí od 0,5 do 3,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a v případě pitné vody má konduktivita průměrnou hodnotu okolo 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (viz Tab. 6).

Tab. 6 Hodnoty konduktivity a koncentrace iontů vybraných druhů vod

Druh vody		Konduktivita ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Koncentrace iontů (mg/L)
Destilovaná voda		0,5 – 3	0,4 – 2,4
Pitná voda	mezí hodnota	1250	1000
	optimální hodnota	250 - 500	200 - 400
	průměrná hodnota	400	320
Kojenecká a stolní voda: mezí hodnota		1000	800
Povrchová a podzemní voda		50 - 500	40 - 400

Stanovení konduktivity

Pro měření konduktivity se používá konduktometr s vodivostní nádobkou (obr. 3). Konduktivitu můžeme měřit podle typu přístroje nejen v laboratoři, ale s použitím přenosných měřičů je možné provádět měření přímo v terénu. Konduktivita se měří co nejdříve po odběru. K odběru se nesmí používat vzorkovnice ze sodného skla, vhodné jsou zejména polyethylenové vzorkovnice. Vzorky musí být před měřením vytemperovány na teplotu 25 °C.



Obr. 3 Konduktometr

2.7. pH

Měření hodnoty pH se provádí u všech druhů vod a má zásadní význam pro další posuzování vlastností analyzované vody. Hodnota pH vzorků vod je silně závislá na jejím chemickém a biologickém znečištění a také na teplotě, při které je měřena. Hodnota pH je významným ukazatelem jakosti pitné vody. Nejvhodnější hodnota pH pitné vody je v rozmezí 6,5 – 7,5. Mezní hodnota pH stanovená pro pitnou vodu je 6,5 - 9,0.

Hodnota pH je definována jako záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů. Ve zředěných vodných roztocích můžeme hodnotu aktivity aproximovat hodnotou koncentrace a poté platí vztah:

$$pH = -\log c(H_3O^+)$$

Stupnice pH nabývá hodnot 0 až 14 (viz Tab. 7) a charakterizuje do jaké míry je daný vzorek kyselý či zásaditý. Destilovaná voda (neobsahující oxid uhličitý) má hodnotu pH rovnu 7, což je hodnota neutrální. Čím je hodnota nižší (oproti pH 7), tím je roztok kyselější a naopak čím je hodnota vyšší (oproti 7), tím je roztok zásaditější.

Tab. 7 Stupnice pH

pH	Charakteristika roztoku
<i>do 4,0</i>	extrémně kyselý
<i>4,1 - 5,2</i>	kyselý
<i>5,3 - 6,5</i>	slabě kyselý
<i>6,6 - 7,4</i>	neutrální
<i>7,5 - 8,7</i>	slabě zásaditý
<i>8,8 - 9,9</i>	zásaditý
<i>nad 10,00</i>	extrémně zásaditý

Stanovení pH

Hodnota pH se stanovuje různými metodami. Nejjednodušší způsob je použití lakmusových papírků. Další možností jsou kolorimetrické metody, které využívají barevnou změnu acidobazických indikátorů. Tato metoda slouží pouze k orientačnímu stanovení. V tabulce 8 jsou uvedeny příklady vhodných indikátorů spolu s jejich funkční oblastí.

Známe-li přibližně pH zkoumaného roztoku (lakmusový papírek), vybereme si indikátor, jehož interval barevného přechodu je vhodný pro danou oblast. Současně vybereme pufr, který překračuje obě hranice barevného přechodu indikátoru. Připravíme si sadu roztoků pufru (10 ml) tak, aby rozdíl hodnot pH sousedních roztoků byl 0,5. Do všech připravených roztoků a také ke vzorku (10 ml) přidáme 0,05 ml indikátoru. Srovnáme zabarvení vzorku se zabarvením pufrů. Srovnání provádíme ihned, protože barva indikátorů se v některých případech může změnit. V případě potřeby přesnějšího určení pH zvolíme roztoky pufrů s menším rozdílem pH.

Tab. 8 Přehled jednotlivých acidobazických indikátorů

Indikátor	Funkční oblast	Barevný přechod	
<i>thymolová modř</i>	1,2 – 2,8	červená	žlutá
<i>benzylová oranž</i>	2,0 – 3,4	červená	žlutá
<i>bromfenolová modř</i>	3,0 – 4,6	žlutá	modrá
<i>bromkresolová zeleň</i>	3,8, - 5,4	žlutá	modrá
<i>methylová červeň</i>	4,4 – 6,2	červená	žlutá
<i>bromkresolový purpur</i>	5,2 – 6,8	žlutá	červenofialová
<i>bromthymolová modř</i>	6,0 – 7,6	žlutá	modrá
<i>fenolová červeň</i>	6,8 – 8,4	žlutá	červená
<i>kresolová červeň</i>	7,2 – 8,8	žlutá	purpurověčervená
<i>thymolová modř</i>	8,0 – 9,6	žlutá	modrá
<i>o-kresolftalein</i>	8,2 – 9,8	bezbarvá	červenofialová
<i>thymolftalein</i>	9,4 – 10,6	bezbarvá	modrá
<i>alizarinová žlut'</i>	10,00 – 12,00	světle žlutá	červenohnědá

Potenciometrické stanovení pH

Nejčastěji a nejpřesněji se hodnota pH stanovuje potenciometricky. Tuto metodu lze používat u vzorků všech druhů vod, i odpadních v rozsahu hodnot pH mezi 3 a 10. Hodnota pH se rychle mění v důsledku chemických, fyzikálních nebo biologických pochodů, proto by vzorky měly být zpracovávány co nejdříve, nejlépe ihned na místě odběru. K tomuto účelu se dají použít přenosné pH metry. Pokud hodnotu pH nelze

změřit na místě, naplní se vzorkovnice (hadičkou ke dnu) opatrně tak, aby nemohlo docházet k výměně plynů s ovzduším. Vzniklé bublinky se odstraní poklepáním a vzorkovnice se plní až po hrdlo. Vzorek se analyzuje co nejdříve, nejpozději do 24 hodin po odběru. Rovněž by se mělo zabránit teplotním změnám vzorku.

Před měřením je potřeba pH metr kalibrovat. Postup je závislý na daném pH metru a použitých elektrod. Používá se buď skleněná měrná a srovnávací elektroda (kalomelová nebo argenochloridová) nebo kombinovaná elektroda, která tvoří článek sama svým vnitřním uspořádáním. Obvykle se přístroj (obr. 4) kalibruje na dva standardní pufrů.

Jeden z kalibračních roztoků by měl být neutrální ($\text{pH}=7$) a druhý směřovat do kyselé či zásadité oblasti podle toho, jaké hodnoty lze u měřených roztoků očekávat. Rozdíl hodnot pufrů by měl být alespoň 3 jednotky ($\text{pH} = 7$ a $\text{pH} = 4$). Po kalibraci můžeme měřit připravené vzorky. Roztoky se připraví do kádinky o objemu, který zaručí dostatečné ponoření elektrody a současně volný prostor pro míchadlo. Elektroda se ponoří do měřeného roztoku a roztok se promíchá. Rychlost míchání by neměla způsobit výraznější přestup vzduchu (zejména oxidu uhličitého) hladinou. Po homogenizování vzorku se míchání vypne a odečte se hodnota pH. Hodnota pH se obvykle uvádí na dvě desetinná místa. Teplota vody, při které byla hodnota pH změřena se uvede na desetinu stupně. Je vhodné uvádět také dobu, která uběhla mezi odběrem a analýzou vzorku.



Obr. 4 pH metr

3. Složení vod

Ve vodě vyskytující se v přírodě jsou vždy přítomny rozpuštěné plyny a rozpuštěné a nerozpuštěné anorganické a organické látky. Další látky se mohou do vody dostat lidskou činností (např. z průmyslových a splaškových odpadních vod či nečistotami z ovzduší). Látky obsažené ve vodách můžeme tedy rozdělit do několika skupin, a to z chemického a fyzikálního hlediska. Z chemického hlediska je možno látky rozdělit na

anorganické a organické. V případě hlediska fyzikálního se jedná o iontově rozpuštěné látky, neiontově rozpuštěné látky a látky nerozpuštěné.

Následující podkapitoly jsou zaměřeny na stanovení vybraných látek, které je možno uskutečnit v laboratoři a/nebo v terénu. Pro stanovení je možno použít jak metody klasické, tak instrumentální.

3.1. Anorganické látky ve vodě

Anorganické látky vyskytující se ve vodě můžou mít rozdílný charakter. Můžou se vyskytovat v několika formách, a to ve formě kationtu, aniontu a v neiontové formě. Jednotlivé prvky se v závislosti na hodnotě pH, oxidačně-redukčním potenciálu a komplexotvorných reakcích mohou ve vodě vyskytovat současně v několika formách.

V přírodních a užitkových vodách jsou ve formě kationtů obsaženy především vápník, hořčík, sodík, draslík a amoniakální dusík. Jako anionty se vyskytují převážně hydrogenuhličitan, sírany, chloridy, dusičnany, dusitany, fluoridy a fosforečnany. Křemík a bor se v těchto vodách vyskytují převážně v neiontové formě.

3.1.1. Vápník a hořčík – stanovení celkové tvrdosti vody

Tvrdość vody můžeme rozdělit na přechodnou, která je způsobena hydrogenuhličitanem vápníku a hořčíku, a tvrdość trvalou způsobenou především sírany vápenatým a hořečnatým. Součtem těchto tvrdostí získáme tvrdość celkovou. Voda mající hodnotu tvrdosti do $0,7 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ se považuje za velmi měkkou, nad $3,75 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ se jedná o vodu velmi tvrdou (viz Tab. 9).

Tab. 9 Meze tvrdosti vody

Tvrdość vody	Koncentrace $\text{Mg}^{2+} + \text{Ca}^{2+}$ ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)
<i>velmi tvrdá</i>	> 3,76
<i>tvrdá</i>	2,51 - 3,75
<i>středně tvrdá</i>	1,26 - 2,5
<i>měkká</i>	0,71 - 1,25
<i>velmi měkká</i>	< 0,7

Pro stanovení tvrdosti vody (koncentrace Ca^{2+} a Mg^{2+} iontů) je možno využít chelatometrickou (komplexometrickou) titraci. Principem chelatometrie je reakce stanovovaného kationu kovu s Chelatonem III (odměrným činidlem), při níž vzniká málo disociovaný, ve vodě rozpustný komplex (vždy v molárním poměru 1:1). Vzhledem k tomu, že stálost těchto komplexů je závislá na pH, je potřeba při chelatometrických

titracích udržovat určitou hodnotu pH, čehož se dosáhne použitím tlumivých roztoků (pufrů). Indikace bodu ekvivalence je prováděna vizuálně, a to pomocí tzv. metalochromních indikátorů tvořících slabý barevný komplex se stanovovaným kationem. Sledujeme tedy barevnou změnu roztoku způsobenou vytěsněním kationu z komplexu s indikátorem.

Stanovení celkové tvrdosti vody

Do titrační baňky odměříme 100 ml vzorku vody. Odměrným válcem přidáme 5 ml Schwarzenbachova pufru a na špičku špachtle indikátor eriochromčern T. Roztok titrujeme 0,05 M odměrným roztokem Chelatonu III. V průběhu titrace sledujeme barevnou změnu (z vínově červené na modrou), která nastane v bodě ekvivalence, zapíšeme spotřebu Chelatonu III. Titraci opakujeme 2x. Z průměrné spotřeby Chelatonu III vypočteme celkovou tvrdost vody.

$$c = c_{chel} \cdot V_{chel} \cdot 10 [\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$$

c_{chel} - koncentrace odměrného roztoku Chelatonu III

V_{chel} - spotřeba odměrného roztoku Chelatonu III

3.1.2. Kolorimetrické stanovení iontů ve vodě

Kolorimetrie je optická metoda založená na porovnávání intenzity zbarveného roztoku o neznámé koncentraci s roztokem těže látky o známé koncentraci (standardu). Je to metoda subjektivní, protože k porovnání intenzit používáme oko. Základem měření je Lambertův-Beerův zákon, z kterého vyplývá, že při stejné intenzitě zbarvení měřeného vzorku a standardu jsou stejné jejich absorbance A .

Pro stanovení anorganických látek ve vodě při jejich analýze v terénu se využívají kolorimetrické komparátory. V praxi se používají různé druhy komparátorů. Princip stanovení je stejný, mění se jen způsob porovnávání barevné intenzity vzorku a standardu. Jednou z možností je srovnání zbarvení vzorku vody ve dvou kyvetách, přičemž do jedné z kyvet přidáme ke vzorku reakční činidlo (podle iontu, který stanovujeme) a před druhou kyvetou posunujeme barevné filtry s různou intenzitou barvy. V okamžiku, kdy se shoduje barva vzorku s reakčním činidlem s barvou kyvety s předřazeným barevným filtrem, odečteme na komparátoru koncentraci stanovované látky ve vzorku. V případě jiného typu komparátoru se používá speciální dvojkyveta. Do jedné poloviny se nalije vzorek, k němuž se přidá reakční činidlo. Druhá polovina kyvety je opatřena folií, na které jsou vyznačena políčka s různou intenzitou barvy. Srovnáním intenzity barvy vzorku s reakčním činidlem s odpovídajícím barevným políčkem lze stanovit koncentraci stanovovaného iontu ve vzorku.



Obr. 5 Kolorimetr

Stanovení fosforu

Fosfor se ve vodách vyskytuje ve formě anorganických nebo organických sloučenin. Nejčastěji se fosfor ve vodě vyskytuje ve formě orthofosforečnanů (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , H_3PO_4). Zdrojem anorganického fosforu mohou být některé prací, čistící, odmašťovací a mycí prostředky, protikoroziční přípravky, apretační prostředky pro textilní průmysl apod. Organicky vázaný fosfor je produktem biologických procesů (rozklad vodní fauny a flory, živočišné odpady, procesy biologického čištění odpadních vod).

Pro kolorimetrické stanovení orthofosforečnanů s využitím komparátoru se používá reakce s molybdenanem amonným za vzniku kyseliny molybdátosfosforečné, která má žluté zbarvení.

Stanovení dusíku:

Dusík patří spolu s fosforem mezi nejdůležitější makrobiogenní prvky. Dusík se vyskytuje ve vodách v různých oxidačních stupních (dusičnany, dusitany, amoniakální dusík a dusík organicky vázaný).

Dusitany ve vodách vznikají obvykle jako přechodný produkt při biologické redukcí dusičnanů nebo biologické oxidaci amoniakálního dusíku. Jejich přítomnost v podzemních a povrchových vodách je důkazem znečištění vod.

Pro kolorimetrické stanovení dusitanů s využitím komparátoru se používá reakce s kyselinou sulfanilovou a 1-naftylaminem za vzniku intenzivně červeného azobarviva.

Dusičnany jsou primárně ve vodě pro člověka málo závadné, ale sekundárně (po bakteriální redukcí v gastrointestinálním traktu) jsou redukovány na toxické dusitany. Stanovení dusičnanů patří mezi základní stanovení fyzikálních a chemických zdravotně významných ukazatelů pitné vody. Pro kolorimetrické stanovení dusičnanů s využitím komparátoru se používá reakce s kyselinou salicylovou za vzniku kyseliny 4-nitro-2-hydroxybenzoové, která má žluté zbarvení.

Stanovení železa:

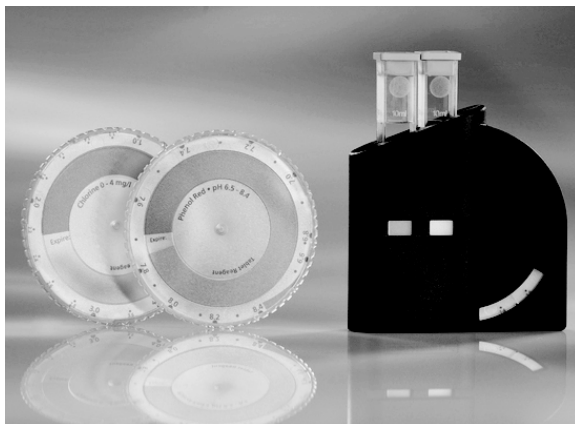
Železo se vyskytuje v podzemních vodách ve formě Fe^{2+} . V povrchových vodách dochází k oxidaci na Fe^{3+} .

Pro kolorimetrické stanovení iontů Fe^{2+} s využitím komparátoru se využívá reakce s difenylpyridyl triazinem za vzniku intenzivně červeno-fialově zbarveného komplexu. Ionty Fe^{3+} musí být redukovány na Fe^{2+} pomocí kyseliny thiolglykolové.

Stanovení manganu:

Mangan v přírodních vodách běžně doprovází železo. Vyskytuje se v nejrůznějších oxidačních stupních, nejčastěji jako Mn^{2+} .

Rozpuštěné sloučeniny manganu ve vodě lze kolorimetricky s využitím komparátoru (obr. 6) stanovit oxidací na manganistan, který má intenzivně fialové zbarvení. K oxidaci se používá peroxidisíran amonný za přítomnosti Ag^+ .



Obr. 6 Komparátor

Stanovení zinku:

Zinek je běžnou součástí hornin, půd a sedimentů. Z průmyslových odpadních vod obsahují zinek např. vody ze zpracování zinkových rud, z moření mosazi, z elektrotechnických výrob a z povrchové úpravy kovů, kde je zinek zpravidla vázán v různých komplexech. Dalším zdrojem zinku jsou nádoby ze zinku nebo pozinkovaných kovů (vědra, plechy, okapy), se kterými voda přichází do styku. Zinek se vyskytuje především v odpadních vodách ve formě Zn^{2+} .

Pro kolorimetrické stanovení zinku s využitím komparátoru se používá reakce zinečnatých iontů s dithizonem za vzniku červeně zbarveného komplexu.

Stanovení mědi:

V přírodě se měď nejčastěji vyskytuje ve formě sulfidů, ze kterých se může do podzemních vod dostat v důsledku jejich rozkladu. Antropogenním zdrojem mědi v povrchových vodách mohou být odpadní vody z povrchové úpravy kovů a z aplikace algicidních preparátů, které se dávkuje proti nadměrnému rozvoji řas a sinic. Také některé fungicidy jsou na bázi sloučenin mědi. V pitné a užitkové vodě může být zdrojem mědi rozpouštění měděného vodovodního potrubí v důsledku agresivního působení vody. Měď se ve vodách vyskytuje ve formě Cu^{2+} .

Pro kolorimetrické stanovení s využitím komparátoru se používá reakce reakce s diethylthiokarbaminem sodným za vzniku modrého intenzivně zbarveného komplexu.

3.2. Organické látky ve vodě

Organické látky vyskytující se ve vodách mohou být přírodního nebo antropogenního původu. V případě přírodního znečištění se může jednat především o výluhy z půdy a sedimentů a produkty činnosti organismů a bakterií.

Může se jednat především o organicky vázané halogeny, nepolární extrahovatelné látky, uhlovodíky, fenoly a polyfenoly, huminové látky, tenzidy a detergenty, pesticidy a komplexotvorné látky.

Stanovení organických složek v analyzovaném materiálu může být v porovnání se složkami anorganickými náročnější. V případě, že je analyzovaná látka obsažena ve vzorku v malém množství, celý postup zahrnuje obvykle několik kroků - izolace složek, jejich zakoncentrování, identifikace a stanovení (určení jejich množství). Izolace se provádí nejčastěji extrakcí materiálu (vody) do organického rozpouštědla nebo adsorpcí na pevném sorbentu (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý). Zakoncentrování většinou nastává již při samotné extrakci nebo adsorpci. Identifikace jednotlivých látek v zakoncentrovaném vzorku je možno provádět např. citlivými barevnými reakcemi. Spolehlivější identifikaci a stanovení umožňují instrumentální techniky.

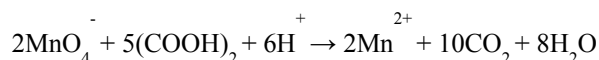
3.2.1. Chemická spotřeba kyslíku

Chemická spotřeba kyslíku (CHSK) je v principu případem oxidačně-redukční titrace, při níž jsou organické látky ve vzorku vody oxidovány silným oxidačním činidlem. Jedná se tedy o nesespecifický ukazatel související zejména s mírou **organického znečištění vody**. Manganistanová metoda určení CHSK (CHSK_{Mn}) je používána hlavně pro pitné a přírodní vody. Hlavní nevýhodou této metody je, že nedochází ke kvantitativní oxidaci všech organických látek přítomných ve vodě, takže jeho hodnota má spíše informativní charakter o znečištění vody.

Tab. 10 Příпустné hodnoty $CHSK_{Mn}$

Voda	$CHSK_{Mn}$ ($mg \cdot l^{-1}$)
Pitná voda	3,0
Vodárenské toky	7,0
Povrchová voda	20,0

Princip manganistanové metody spočívá v oxidaci organických látek (obsažených ve vzorku vody) manganistanem draselným v kyselém prostředí kyseliny sírové při desetiminutovém varu. Oxidace musí probíhat za přebytku manganistanu (minimálně 40%). Úbytek manganistanu, tj. množství spotřebované na oxidaci organických látek, se zjistí odměrným manganometrickým stanovením tak, že po ukončené oxidaci se do reakčního roztoku přidá známé množství standardního odměrného roztoku kyseliny šťavelové, která se zpětně titruje odměrným roztokem manganistanu draselného.



Stanovení chemické spotřeby kyslíku manganistanovou metodou

Do titrační baňky vložíme několik varných kamínků a odměříme 100 ml vzorku destilované vody (pro zjištění hodnoty V_s). Přidáme 5 ml roztoku kyseliny sírové (zřed. 1:2) a 20 ml odměrného roztoku manganistanu draselného (přesná koncentrace je uvedena na zásobní láhvi) a promícháme. Na hrdlo baňky položíme hodinové sklo a baňku umístíme na vařič. Směs zahříváme tak, aby se do pěti minut uvedla k varu, a poté udržujeme var po dobu deseti minut. K horkému roztoku přidáme 20 ml roztoku kyseliny šťavelové ($c = 0,005 \text{ mol/l}$). Odbarvený horký roztok ihned titrujeme odměrným roztokem manganistanu draselného do stabilního slabě růžového zbarvení (proti bílému pozadí). Teplota vzorku při titraci nesmí klesnout pod $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Stejný postup opakujeme pro předložený vzorek vody (pro každé měření odměříme 100 ml). Titraci provádíme 3x.

$$CHSK_{Mn} = \frac{F_t \cdot c_t (V_t - V_s) \cdot A_r(O) \cdot 10^3}{V_v} [mg/l]$$

V_t	spotřeba odměrného roztoku manganistanu draselného (ml)
c_t	koncentrace odměrného roztoku manganistanu draselného (mol/l)
V_s	spotřeba odměrného roztoku $KMnO_4$ při slepém stanovení (ml)
V_v	použitý objem vzorku (ml)

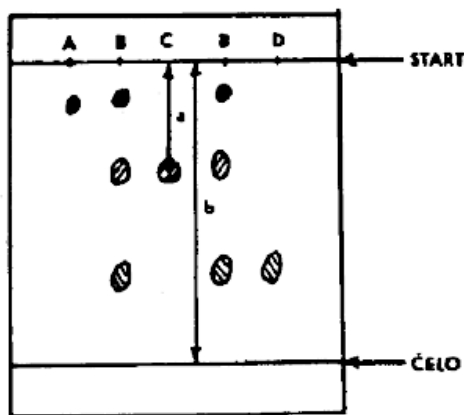
$A_r(O)$ relativní atomová hmotnost kyslíku
 F_t titrační faktor (rovnice viz výše); 5/2

3.2.2. Fenoly

Fenoly ve vodách pocházejí především z průmyslového znečištění, avšak mohou být i přírodního původu. Značné koncentrace fenolů se vyskytují v některých průmyslových odpadních vodách, např. z tepelného zpracování uhlí, petrochemie, organických syntéz apod. Jsou také součástí některých dezinfekčních a konzervačních prostředků.

Stanovení fenolů tenkovrstevnou chromatografií

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) je metodou založenou na rozdělení látek (analytů) podle míry jejich interakce s mobilní a stacionární fází (stacionární fází je nejčastěji vrstva SiO_2). Pomocí TLC je možno rychle a účinně rozseparovat látky vyskytující se ve vzorcích z různých odvětví. Následná detekce je prováděna pomocí UV lampy nebo postřikem vhodným detekčním činidlem. Přítomnost daného analytu je možno potvrdit pomocí tzv. retenčního faktoru (R_f), který je možno vypočítat z chromatogramu (Obr. 7).



Obr. 7 Chromatogram získaný po analýze tenkovrstevnou chromatografií

Fenoly jsou slabými kyselinami, a proto se extrahují z okyseleného vzorku vody do rozpouštědla (chloroform). V průběhu extrakce připravíme chromatografickou komoru nalitím 20 ml benzenu a necháme nasytit parami rozpouštědla. Extrakt (spolu se standardy) poté nanese na start tenké vrstvy silikagelu (TLC deska), vložíme do komory a jednotlivé složky se separují vztlínajícím rozpouštědlem. Když čelo rozpouštědla dosáhne 2 cm od horního okraje, desku vyjmeme a zaznameneáme stopu čela. Skvrny bezbarvých fenolů se odkryjeme postřikem detekčního činidla. Pro fenoly je vhodným detekčním činidlem roztok diazoniové soli (4-nitrobenzodiazoniumchlorid), který s fenoly poskytuje azobarvivo. Roztok 4-nitrobenzodiazoniumchloridu připravíme diazotací 4-nitroanilinu v prostředí HCl těsně před postřikem. Změříme vzdálenosti skvrn od startu (a) a vzdálenost čela od startu (b). Vypočteme hodnoty retenčního faktoru R_f tj.poměr vzdálenosti těžiště skvrny od

„startu“ a vzdálenosti „čela“ od „startu“. Porovnáním hodnot R_f fenolů ve vzorku a standardů provedeme identifikaci fenolů přítomných ve vodě.

4. Shrnutí

Hlavní cílem kapitoly „Voda kolem nás“ je seznámit (nejen) středoškolské studenty se stanovením vybraných parametrů vod. Studenti mají prostřednictvím zvolených metod možnost setkat se s metodami klasickými i instrumentálními, kvalitativními i kvantitativními. Vybrané metody obsahují jak teoretickou část sloužící k pochopení problematiky, tak část praktickou, díky níž je možno získat praktické dovednosti. Nemalou část praktických úloh je možno použít v laboratoři a/nebo v přímo v terénu. Studenti se můžou taktéž seznámit s přípravou pitné vody v terénu, kterou mohou aplikovat v praxi.

5. Použitá literatura

1. Pitter P.: Hydrochemie. VŠCHT, Praha 2009.
2. Horáková M. a kol.: Analytika vody. VŠCHT, Praha 2003.
3. Zýka J. a kol.: Analytická příručka - 1.díl. SNTL, Praha 1988.
4. Harvey D.: Modern Analytical Chemistry. The McGraw-Hill Companies, USA 2000.
5. Manahan S.E.: Environmental chemistry. CRC Press, Boca Raton 2005.
6. Kegley S.E., Andrews J.: The chemistry of water. University Science Book, Kalifornie 1998.
7. Snoeying V.L., Jenkins D.: Water chemistry. John Wiley and Sons, New York 1980.

6. Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu OPVK „Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědeckovýzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

BÍLKOVINY – ZÁKLAD ŽIVOTA NA ZEMI

Ludmila Zajoncová

Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty UP Olomouc, Šlechtitelů 11, Olomouc-Holice, Česká republika. E-mail: ludmila.zajoncova@upol.cz

Abstrakt

Bílkoviny jsou základem všech živých organismů, kde plní nejrůznější funkce. Jsou stavebními jednotkami organismů, pomáhají při transportu a skladování látek v organismu, zajišťují pohyb. Řada bílkovin má katalytické, řídicí či regulační schopnosti. V živočišných organismech existuje specifická skupina bílkovin – tzv. protilátky, které zajišťují ochrannou a obrannou funkci organismu.

Klíčová slova: bílkoviny, proteiny, aminokyseliny, chemické pokusy s bílkovinami, protilátky.

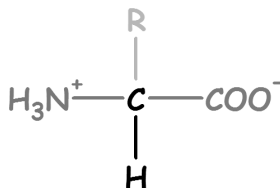
1. Úvod

Bílkoviny se jinak nazývají proteiny. Slovo protein je odvozeno z řečtiny a znamená „na prvním místě“. Tento název navrhl Berzelius a je výstižný, neboť různé bílkoviny jsou spojeny s celou řadou životně důležitých procesů. V nejjednodušších živých organismech, v buňkách bakterií se nachází více jak 3000 různých bílkovin, buňky savců mohou obsahovat až 10 tisíc druhů bílkovin a v celém lidském organismu se vyskytuje až 5 milionů různých bílkovin.

Po stránce chemické jsou bílkoviny makromolekuly obsahující dusík (15-18 %), jejich monomerními jednotkami jsou α -aminokyseliny.

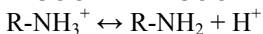
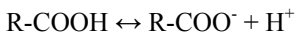
1.1. Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou nejen součástí bílkovin, ale jsou potřebné také jako zdroj uhlíkatých řetězců při syntéze porfyrinů, purinů nebo pyrimidinů. Přímou účastní syntézy močoviny. Rozkladem některých aminokyselin v odumřelých organismech vznikají mrtvolné jedy – putrescin a kadaverin. Aminokyseliny mají dvě funkční skupiny – aminovou ($-\text{NH}_2$) a karboxylovou ($-\text{COOH}$), jak je patrné z jejich obecné struktury (Obr.1).



Obr. 1. Obecná struktura aminokyselin

V živých organismech existují pouze α -L-aminokyseliny. Písmeno α znamená, že hlavní funkční skupiny jsou vázány na α -uhlíku. Je na něm vázán 1 atom vodíku, postranní řetězec aminokyseliny (označovaný R). Za takových podmínek je α - uhlík chirální. Tím, že je uhlík chirální, mají aminokyseliny schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla. Každá aminokyselina obsahuje alespoň dvě funkční skupiny, které mohou disociovat: $-\text{COOH}$ a NH_3^+ a vytvářet konjugované báze $-\text{COO}^-$ a $-\text{NH}_2$. V roztoku pak kyselina a její konjugovaná zásada jsou v rovnováze:



Podle toho, jaké je pH prostředí, ve kterém se aminokyselina nachází, se ustavuje rovnováha. Při nízkém pH je koncentrace vodíkových iontů vysoká, a proto obě skupiny váží proton. Když se pH roztoku zvýší, nejprve se uvolní proton z karboxylové skupiny (neboť má menší disociační konstantu). Je tomu tak například při pH krve nebo cytoplazmy, kdy karboxylová skupina vystupuje jako karboxylový iont R-COO^- a aminoskupina je protonizována R-NH_3^+ . V této oblasti pH vzniká tzv. amfion, který nese kladný i záporný náboj. Když je pH vysoké, uvolní se záporný náboj i z aminoskupiny a obě funkční skupiny se pak nacházejí ve stavu konjugované báze.

Pro každou z aminokyselin existuje určitá hodnota pH, kdy má nulový volný elektrický náboj, tj. nachází se v podobě amfiontu, který se nepohybuje v elektrickém poli. Tato hodnota pH se nazývá izoelektrický bod.

Všechny živé organismy mají bílkoviny vytvořené z 19 druhů aminokyselin a jedné iminokyseliny (prolin). Všechny tyto aminokyseliny se nazývají biogenní nebo také proteinogenní. Kromě nich se ještě vzácně vyskytují dvě další aminokyseliny selenocystein a pyrolysin. Proteinogenní aminokyseliny lze podle struktury rozdělit do

několika skupin (Tabulka 1). Každá aminokyselina má svoji zkratku, která je také uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1. Proteinogenní aminokyseliny

Aminokyseliny s alifatickým postranním řetězcem		
Název	zkratka	zkratka
glycin	Gly	G
alanin	Ala	A
valin	Val	V
leucin	Leu	L
izoleucin	Ile	I
Aminokyseliny s karboxylovou nebo amidovou skupinou v postranním řetězci		
kyselina asparagová	Asp	D
asparagin	Asn	N
kyselina glutamová	Glu	E
glutamin	Gln	Q
Aminokyseliny s aminovou skupinou na postranním řetězci		
arginin	Arg	R
lysin	Lys	K
Aminokyseliny s aromatickým jádrem nebo hydroxylovou skupinou v postranním řet.		
histidin	His	H
fenylalanin	Phe	F
serin	Ser	S
threonin	Thr	T
tyrosin	Tyr	Y
tryptofan	Trp	W
aminokyseliny se sírou v postranním řetězci		
methionin	Met	M
cystein	Cys	C
iminokyselina		
prolin	Pro	P

Řadu aminokyselin živočišný organismus nedokáže syntetizovat a musí být do organismu dodány s potravou. Tyto aminokyseliny se nazývají esenciální. Některé aminokyseliny mohou v těle vznikat, ale jen z jiných esenciálních aminokyselin, například methionin může být syntetizován z homocysteinu, ale na druhou stranu homocystein sám vzniká jen z methioninu. Kvalita bílkovin v potravě se měří podle obsahu esenciálních aminokyselin (tabulka 2). Čím je větší podíl esenciálních aminokyselin k neesenciálním, tím je bílkovina kvalitnější. Mezi vysoce kvalitní bílkoviny patří mléko, vejce a maso. Naproti tomu bílkoviny z rostlin mají často nedostatek určitých esenciálních aminokyselin. Proto při veganské dietě hrozí jejich nedostatek. Například bílkoviny z pšenice mají málo lysinu, bílkoviny z luštěnin zase málo methioninu. Lidský organismus potřebuje denně nejméně 80 g bílkovin. Proteiny jsou v trávicím traktu štěpeny volnými enzymy (trypsin, pepsin) nebo enzymy vázanými

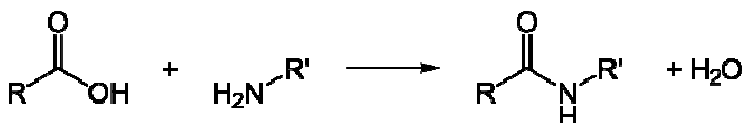
na membráně enterocytů. Jednotlivé aminokyseliny jsou resorbovány do krve, kde mohou být použity pro biosyntézy nebo katabolizovány (odbourávány).

Tabulka 2. Esenciální aminokyseliny

histidin
izoleucin
leucin
lysin
methionin
fenylalanin
threonin
tryptofan
valin
arginin

1.2. Peptidy a bílkoviny

Aminokyseliny jsou vzájemně vázány aminoskupinou $-NH_2$ a karboxylovými skupinami $-COOH$, které vytvoří amidovou vazbu, označovanou v případě proteinů jako peptidová vazba (Obr. 2). Podle počtu aminokyselin, které jsou v molekule navázány, rozlišujeme oligopeptidy (2-10 AK), polypeptidy (11-100 AK) a bílkoviny (více jak 100 AK).



Obr. 2. Vznik peptidové vazby

Molekuly proteinů mohou být ve vodě nerozpustné (skleroproteiny), jedná se o vláknité, protáhlé struktury, nebo kulovité či elipsoidní ve vodě rozpustné sferoproteiny. Mezi skleroproteiny patří kolagen, keratin, fibroin, které tvoří vlasy, rohovinu či chrupavky. U bílkovin rozlišujeme primární, sekundární, terciální a kvartérní strukturu. Primární struktura je dána pořadím aminokyselin v polypeptidovém řetězci. Zapisuje se od N-konce k C-konci. Sekundární struktura je uspořádání polypeptidového řetězce na krátké vzdálenosti, tj. mezi několika po sobě jdoucími aminokyselinami. Rozpoznávají se různé druhy stavebních motivů: α -šroubovice (α -helix), struktura skládaného listu (β -list), otočka nebo neuspořádaná struktura (random coil). Pod pojmem terciální struktura se označuje trojrozměrné uspořádání celého peptidického řetězce. Kvartérní struktura řeší uspořádání v proteinových aglomerátech, které tvoří jednu funkční bílkovinu. Polypeptidové řetězce mohou být spojeny nekovalentními interakcemi či vodíkovými můstky. Bílkoviny se mohou skládat z odlišných nebo shodných podjednotek.

Bílkoviny jsou základem všech živých organismů a plní v nich celou řadu funkcí:

- Stavební funkce (kolagen, elastin, keratin)
- Transportní a skladovací (hemoglobin, transferin)
- Zajišťující pohyb (aktin, myosin)
- Katalytické, řídicí a regulační (enzymy, hormony, receptory)
- Ochranné a obranné (imunoglobuliny, fibrin, fibrinogen).

2. Protilátky - bílkoviny na ochranu a obranu organismu

2.1. Historie

Protilátky jsou zvláštní skupinou bílkovin, jejichž působení bylo známo již v období 430 let před naším letopočtem. V období Peloponézských válek bylo pozorováno, že ten, kdo se dostal do kontaktu s morem a uzdravil se, mohl dále pečovat o nemocné, aniž by znovu onemocněl. Příčina, že to způsobují nějaké specifické bílkoviny, které v těle po ataku nemoci vznikly, se ale velmi dlouho nevěděla. Navíc lidé nedokázali tuto empirickou zkušenost aplikovat na jiné onemocnění. Příčina uzdravení a další ochrana lidského těla spočívá v získání imunity. Slova imunita pochází z anglického slova immunity a znamená stav ochrany před infekční nemocí.

První pokusy vyvolat imunitu byly zaznamenány v 15. století. Pokusy prováděli Číňané a Turci. Zprávy z té doby doporučovaly, aby se strupy z pravých neštovic vdechovaly nebo vkládaly do malých řezů v kůži a tím chránily před onemocněním. Tento způsob se nazývá VARIOLACE. Prakticky tyto zprávy ověřila paní Montagu, žena britského ambasadora v Konstantinopolu na svých vlastních dětech v roce 1718. Později (v roce 1798) tuto metodiku zdokonalil anglický lékař Jenner, který zjistil, že dojičky krav, které přišly do kontaktu s kravskými neštovicemi, už neonemocněly pravými neštovicemi. Předpoklad ověřil tím, že osmiletého chlapce naočkoval kapalinou z vřídků neštovic krav a později jej úmyslně kontaktoval s pravými neštovicemi. Chlapec, jak předpokládal, už neonemocněl. Tato praktika byla známa v celé Evropě, ale nikdo ji neaplikoval na jiná onemocnění. Teprve po 100 letech prováděl pokusy francouzský vědec Pasteur, který vpravoval živou kulturu bakterií, která způsobovala drůbeží choleru, do kuřat. Po vpravení kultury kuřata postupně umírala. Protože však pracoval stále se stejnou kulturou, tak ta postupně slábla a stalo se, že kuřata se časem uzdravila. Aby ušetřil, použil pro další pokusy uzdravená kuřata a zjistil, že ačkoliv je očkoval novou nezesláblou kulturou bakterií, kuřata už znovu neonemocněla. Pasteur provedl závěr, že zesláblá kultura patogenů může organismus chránit před dalším onemocněním. Tento zesláblý kmen bakterií nazval VACCINE, česky vakcína, a to na počest Jennerovy práce s kravskými neštovicemi. Pasteur své závěry rozšířil i na další nemoci a také podal první vakcínu člověku. Jednalo se o mladého chlapce, který byl opakovaně pokousán vzteklým psem. Chlapec Joseph Meister byl postupně očkován sérií zesláblých preparátů virů vztekliny. Chlapec přežil a později se stal hlídačem v Pasteurově institutu. Ačkoliv Pasteur vakcinaci prováděl, neměl tušení o vytvořených bílkovinách-protilátkách v organismu.

Vědci Behring a Kitasako v roce 1890 pochopili mechanismus imunity a v roce 1901 za to dostal Behring Nobelovu cenu. Dokázali, že krevní sérum ze zvířat dříve očkováných na záškrť (difterie), mohlo vytvořit imunitu tím, že bylo očkováno do dalších neimunizovaných zvířat. Bylo zjištěno, že aktivní komponenta z imunizovaného

séra mohla neutralizovat toxin. Tato aktivní komponenta séra byla pro své vlastnosti nazvána antitoxin. V 30. letech minulého století našel Elvin Kabat frakci odpovědnou za tuto vlastnost a nazval ji gamma-globulin (imunoglobulin). Molekuly této imunoglobulinové frakce byly nazvány protilátky. Typ této imunity je označován jako humorální. Ještě předtím Ilja Mečnikov (1883) pozoroval bílé krvinky, které nazval fagocyty a zjistil, že jsou schopny spolknout mikroorganismy a další cizí materiál. Fagocytické buňky byly více aktivní u zvířat, která byla imunizována. Proto za vykonavatele imunity označil buňky nikoliv tělesnou tekutinou. V té době se vyvíjel spor mezi zastánci humorální a buněčné imunity. Později se zjistilo, že obě teorie jsou správné a imunita vyžaduje jak humorální, tak buněčnou odezvu.

2.2. Imunitní systém

Využitím protilátek v praxi se zabývá věda Imunochemie, která je součástí imunologie. Výsledky a metodické postupy imunochemie tvoří samostatný celek, z kterého čerpají i jiné vědní obory.

Pro tvorbu protilátek hraje rozhodující roli imunitní systém, který mají vyšší živočichové. Nejdokonalejší je u člověka. Imunitní systém tvoří 10^{12} lymfocytů (bílých krvinek), přídavných buněk makrofágů a 10^{20} molekul protilátek. Součástí imunitního systému jsou také miliony molekul výkonných a regulačních látek, imunohormony a cytotoxické buňky. Všechny tyto složky imunitního systému se sdružují v primárních nebo sekundárních lymfoidních orgánech. Primární lymfoidní orgány jsou brzlík (thymus) a kostní dřeň (stehenní kost). Mezi sekundární lymfoidní orgány patří slezina, lymfatické uzliny a sliznice.

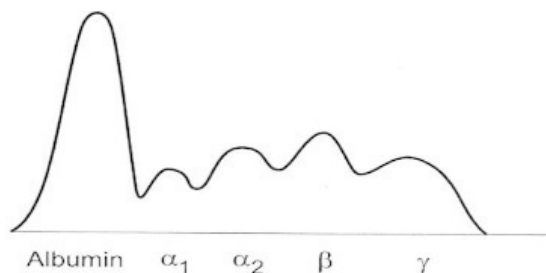
Základní funkcí imunitního systému je imunologický dohled a ochrana před patogenními mikroorganismy. Imunologický dohled spočívá v tom, že lymfocyty kolují v těle a rozpoznávají vlastní od cizího. Umí vyloučit nádorové, poškozené a opotřebované buňky těla a kromě toho i buňky z geneticky odlišného jedince. Imunitní systém také chrání tělo před vlivem bakterií, virů, plísní, kvasinek a všech dalších cizorodých látek, které do těla vniknou.

Imunitní systém reaguje na všechny cizorodé látky a organismy, které se do těla dostanou. Reakce imunitního systému může být prospěšná, pokud se jedná o odstranění cizorodých látek. Někdy však začne imunitní systém vytvářet protilátky (bojovat) proti vlastním buňkám organismu, které z nějakého důvodu začne považovat za cizí. Tyto reakce označujeme jako autoimunitní. Většinou je známe jako různé projevy alergických reakcí (například různé ekzémy). Takový typ reakce imunitního systému považujeme za škodlivý. Někdy se stane, že po vniknutí cizorodé látky do organismu, nedojde k žádnému projevu, jedná se o reakci indiferentní.

Když imunitní systém eliminuje všechno, co je pro organismus cizí, jak může být provedena transplantace orgánů? Pokud má být transplantován nějaký orgán, je třeba tělo na to připravit a potlačit funkci imunitního systému, a to imunosupresivní terapií. Imunosupresivní terapie může být provedena několika způsoby, a to fyzikálně ozářením, chemicky pomocí látek, které inhibují proteosyntézu (například kortikosteroidy) nebo biologicky odstraněním brzlíku. Imunosuprese je krátkodobá inhibice imunitního systému. Je zřejmé, že pokud se provede imunosuprese, je organismus schopný přijat cizí orgán, ale zároveň je náchylný k jakémukoliv onemocnění.

2.3. Protilátky

Základním prvkem imunitního systému, který plní funkce imunologického dohledu a ochrany před cizorodými organismy a látkami jsou protilátky. Svou podstatou jsou protilátky glykoproteiny, což znamená, že molekula obsahuje složku bílkovinou i cukernou. Protilátky se nacházejí v celém organismu, především v tělesných tekutinách. Byly izolovány z krevního séra. Pokud se provede elektroforéza krevního séra pomocí stejnosměrného proudu, pohybují se protilátky - gama-globulinová frakce nejpomaleji - frakce γ (Obr. 3).



Obr.3. Frakcionace krevního séra pomocí stejnosměrného proudu

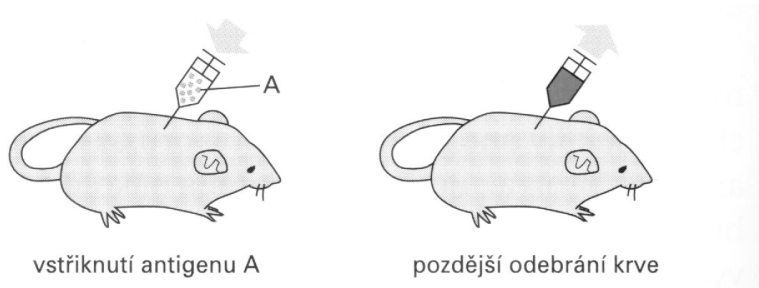
2.4. Antigeny

Do živého organismu mohou pronikat různé cizorodé látky, jako jsou mikroorganismy nebo makromolekulární látky. Látky, na které může imunitní systém reagovat, se označují jako antigeny. Antigenem může být pouze sloučenina, jejíž molekulová hmotnost je větší jak 10 kDa. Malá molekula je z organismu eliminována jinými cestami, než imunitním systémem. Pokud vzniká potřeba vytvořit protilátku proti malé molekule, navazuje se tato molekula na makromolekulární nosič. Vhodným nosičem je často albumin nebo želatina. Malá molekula je pak označována jako haptén. Antigenem se mohou stát různé biopolymery a jejich komplexy, které se nacházejí v přírodě, ale také uměle vytvořené molekuly vzniklé v laboratoři (polypeptidy, polysacharidy). Jak již bylo řečeno, nízkomolekulární látka se může stát antigenem, jen pokud je navázaná na makromolekulární nosič. Tato reakce může nastat přímo v živém organismu jako nežádoucí projev imunitního systému, když například penicilin nebo sulfonamid se naváže na buňky nebo makromolekulární látku. Na takovýto komplex pak reaguje imunitní systém tvorbou protilátek. Další dávka tohoto léku do organismu pak může vyvolat alergickou reakci nebo až anafylaktický šok. V imunochemii se této možnosti využívá pro stanovení celé řady složitých nízkomolekulárních látek. Nízkomolekulární látky se naváží na makromolekulární nosič a vpraví se do organismu, kde vyvolají tzv. imunitní odpověď, to je tvorbu protilátek. Protilátky pak slouží v imunochemii jako vysoce specifický nástroj pro analýzu těchto nízkomolekulárních látek.

2.5. Příprava protilátek

Tvorba protilátek v lidském těle má význam jako ochrana před nemocemi. Protilátky se vytvářejí jako reakce na očkování. Protilátky jako analytický nástroj v imunochemii se získávají očkováním laboratorních zvířat. V tomto případě se hovoří o tzv.

polyklonálních protilátek. Je to směs glykoproteinů, které reagují s různými funkčními skupinami na povrchu původního antigenu. Vedle toho existují specifičtější protilátky označované jako monoklonální, které reagují jen s jednou funkční skupinou na původním antigenu. Jako laboratorní zvířata pro přípravu protilátek se nejčastěji používají králíci a myši (Obr. 4).



Obr. 4. Princip tvorby protilátek

Pokud je potřeba většího množství protilátek, například pro průmyslovou výrobu analytických setů, zvolí se větší zvíře jako je kůň, prase, koza nebo ovce, ze kterého se dá postupně odebírat krev ve větším množství, nebo se zvíře vykrví. Antigen se do vybraného zvířete může vpravit několika způsoby. Každá laboratoř, která pracuje se zvířaty, má své vlastní postupy získané na základě zkušeností. Antigen se může vpravit do kůže, pod kůži, do svalu nebo do břišní dutiny. Obvykle se očkování ještě po nějaké době několikrát opakuje. Aby imunitní systém reagoval co nejintenzivněji, tak se společně s antigenem do organismu vpravují adjuvantní látky, které mají za cíl chránit antigen před degradací a aktivovat mechanismy zápalové reakce (aktivace IS). Při očkování lidí se jako adjuvantní látka používá hydroxid hlinitý, v případě zvířat se nejčastěji volí tzv. Freudovo adjuvans, které je směsí oleje, emulgátoru a usmrcených mykobakterií. Obvykle se očkují zvířata ve 14 denních intervalech. Po 4-5 dávkách je imunizace skončena a provede se odběr. U malých zvířat se provede vykrvení. Sbírá se krev, která se nechá srazit. Krevní koláč se odfiltruje a vzniklé krevní sérum se zcentrifuguje. Takto získané krevní sérum již lze použít v imunochémii ke stanovení původního antigenu nebo haptenu, anebo se může dále čistit (purifikovat) různými biochemickými metodami.

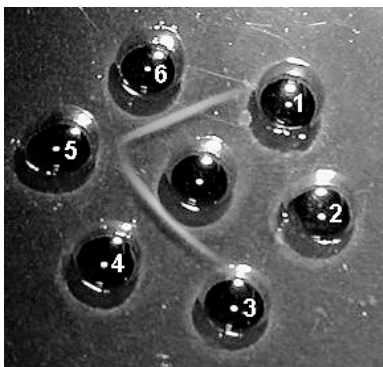
Příprava monoklonálních protilátek spočívá v buněčné fúzi myelomových buněk se slezinnými lymfocyty z myši imunizovaných požadovaným antigenem. Fúzí vznikají hybridomové buňky tzv. hybridomy, které mají vlastnosti obou rodičovských buněk, a to schopnost produkovat protilátky pro použitý antigen (slezinová buňka) a schopnost dělit se po neomezený počet generací (nesmrtelnost myelomových buněk). Na počátku přípravy monoklonálních látek je imunizace myši antigenem. Takto imunizované myši produkují polyklonální protilátky, které v tomto případě nejsou podstatné. Nás zajímá slezina z této myši, která obsahuje buňky, které produkují potřebné protilátky. Ze sleziny

se buňky vymyjí a fúzí se s myelomovými buňkami. Aby fúze proběhla je třeba do média přidat fúzogen - polyethylenglykol. Aby rostly pouze hybridomy, probíhá fúze v prostředí HAT média. HAT médium je složeno z hypoxanthinu, aminopterinu a thymidinu a slouží k selekci buněk. V jeho přítomnosti nemohou růst buňky s určitými enzymovými defekty. Na HAT médiu rostou pouze hybridomy složené z lymfocytu a myelomové buňky (jedna část buňky enzymové defekty nemá).

Po fúzi se směs rozpípetuje do mikrotitračních destiček tak, aby v každé jamce byla maximálně jedna buňka (teoreticky, ve skutečnosti tam nemusí být žádná nebo několik). Po určité době inkubace se zkoumá obsah jednotlivých jamek na přítomnost protilátek. Jamky, ve kterých jsou protilátky přítomné, se dále rozmnoží a rozpípetují. To se několikrát opakuje. Výsledkem je získání jednoho klonu buněk, který produkuje protilátky proti jednomu místu na antigenu. Tento klon se pak rozmnožuje metodami tkáňových kultur.

2.6. Využití protilátek v metodách imunochemie

Při reakci antigenu s protilátkou se vytvoří silná biospecifická vazba. Pokud se pracuje s polyklonálními protilátkami, dochází při této reakci (probíhající v mikrozkušavkách) ke vzniku zákalu nebo sraženiny. Pozitivitu, tedy důkaz antigenu, lze pozorovat přímo okem nebo pomocí lupy, ale také spektrofotometrickými či nefelometrickými metodami. Spektrofotometricky se sleduje úbytek záření po průchodu kyvetou, kde proběhla reakce antigenu a protilátky. Nefelometr je zařízení přesnější, ale také dražší. Umožňuje měřit záření, které vzniká rozptylem na částicích v roztoku. Kromě kapalného prostředí lze imunoprecipitaci sledovat v gelovém prostředí, kde se pozitivita projeví jako průsvitný bílý proužek (Obr. 5).



Obr. 5. Imunoprecipitace v gelu

Existuje celá řada různých imunoprecipitačních metod, které slouží k důkazu antigenu, ale i ke stanovení jeho koncentrace. Kromě těchto jednoduchých metod, které stále mají své místo v praxi, se protilátky využívají v metodách, kdy jeden z partnerů (antigen nebo protilátka) se označí a po skončení reakce a separaci se stanoví množství značky. Zpočátku se jako značka používal radioaktivní nuklid, dnes se dává přednost enzymovým, fluorescenčním nebo luminiscenčním značkám. Tyto metody se označují jako RIA, ELISA, EIA, CIA a FIA a umožňují stanovení složitých sloučenin v

biologických směsích v poměrně nízkých koncentracích. V těchto metodách se využívají jak polyklonální, tak monoklonální protilátky. Právě použití monoklonálních protilátek umožňuje specifické stanovení konkrétní sloučeniny v složité biologické směsi.

Protilátek (polyklonálních nebo monoklonálních) využívá také imunohistochemie, pomocí které se dají dokázat specifické látky v tkáni. Metoda nachází uplatnění především v medicíně, kdy pomocí protilátek lze například dokázat nádorové bujení v tkáni. Metoda spočívá ve fixaci tkáně (rostlinné nebo živočišné) na podložním sklíčku, po různých úpravách se na tkáň aplikuje protilátka značená značkou. Značka může být opět enzym, fluorofor či luminofor. Pokud je ve tkáni přítomen hledaný antigen, tak můžeme v místě výskytu pozorovat ve světelném mikroskopu zbarvení (po aplikaci substrátu, když značka je enzym) nebo ve fluorescenčním mikroskopu fluorescenci (když značka je fluorofor). Protilátky se využívají také u biosensorů na bázi optických vláken, kdy lze sledovat vznik imunokomplexů v reálném čase.

2.7. Protilátky a legislativa

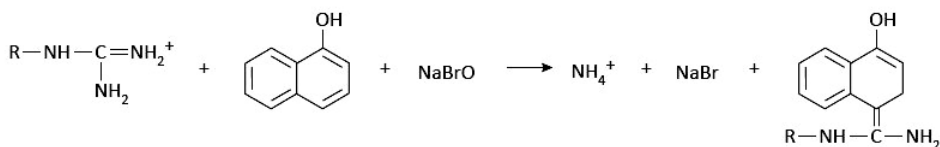
Příprava protilátek musí být prováděna v souladu s předpisy. Je třeba především dodržovat zákon České národní rady č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Dnes již není možné, aby si kdokoliv koupil králíka, aplikoval mu antigen a získával z něj protilátky. Práci se zvířaty podle tohoto zákona mohou vykonávat jen lidé, které na to mají vzdělání (vysokoškolské s oblasti biologie) a zároveň byli úspěšně proškoleni. Stejně tak místo, zvěřinec, kde se zvířata chovají, podléhá přísným normám, které musí být dodržovány.

3. Experimentální část

3.1. Důkazy a stanovení aminokyselin

3.1.1. Důkaz argininu Sakaguchiho reakce

Princip: Působením alkalického bromnanu a α -naftolu na guanidinovou složku argininu vzniká červené zbarvení substituovaného 1,4-naftochinonu (Obr. 6).



Obr. 6. Sakaguchiho reakce

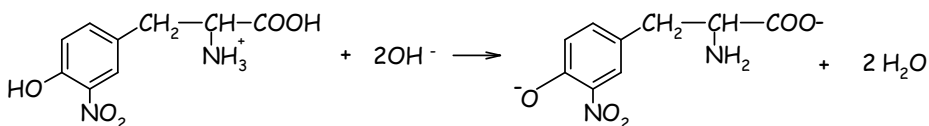
Chemikálie: standard 2% roztok argininu ve vodě, 10% hydroxid sodný, 0,2% α -naftol v ethanolu, bromnan sodný.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety.

Pracovní postup: K 0,5 ml roztoku argininu přidáme 3 kapky 10% hydroxidu sodného, 0,25 ml ethanolického roztoku α -naftolu a poté několik kapek bromnanu. Vznikne malinově červené zbarvení.

3.1.2. Důkaz tyrosinu a tryptofanu Xanthoproteinová reakce

Princip: Aromatické aminokyseliny tryptofan a tyrosin se lehce nitrují nitrační směsí za vzniku žlutých produktů, které v alkalickém prostředí přecházejí do oranžové až červené soli aciformy nitrosloučenin (Obr.7).



Obr.7. Xanthoproteinová reakce

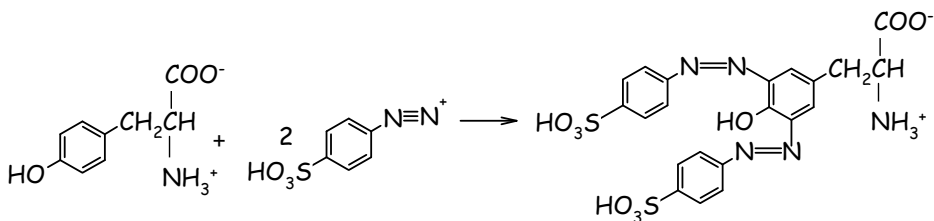
Chemikálie: standardy tryptofanu a tyrosinu 2% roztoky ve vodě, koncentrovaná kyselina dusičná, 10% hydroxid sodný.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, kahan, držák na zkumavku.

Pracovní postup: Smícháme 0,5 ml roztoku tyrosinu nebo tryptofanu s 0,25 ml koncentrované kyseliny dusičné a zkumavku zahřejeme nad kahanem. Vzniká žluté zbarvení, případně sraženina. Po ochlazení se do zkumavky přidá několik kapek 10% roztoku hydroxidu sodného a barva se změní na oranžovou až červenou.

3.1.3. Důkaz tyrosinu a histidinu Paulyho reakce

Princip: Reakcí tyrosinu a histidinu s diazotovanou kyselinou sulfanilovou v alkalickém prostředí vznikají barevné kopulační produkty (azobarviva) (Obr.8).



Obr.8. Paulyho reakce

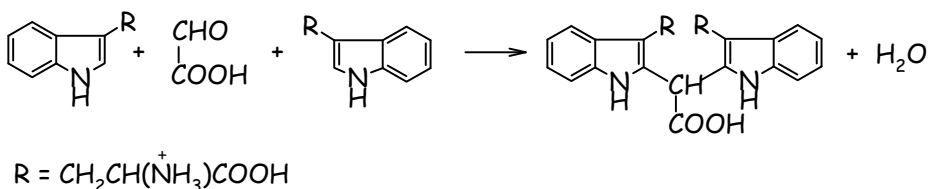
Chemikálie: 2% standardy tyrosinu a histidinu ve vodě, Paulyho činidlo I (5% roztok dusitanu sodného ve vodě), Paulyho reagens II (900 mg kyseliny sulfanilové se rozpustí v 9 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a doplní se do 100 ml destilovanou vodou), 1,5 M uhličitan sodný.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety.

Pracovní postup: ve zkumavce smícháme 0,25 ml Paulyho činidla I s 1 ml Paulyho činidla II. K 0,5 ml roztoku tyrosinu nebo histidinu přidáme 0,25 ml reakční směsi činidel a zalkalizujeme 1,5 M uhličitanem sodným. Vzniknou oranžově červené kopulační produkty.

3.1.4. Důkaz tryptofanu Adamkiewiczova reakce

Princip: Kondenzací tryptofanu s kyselinou glyoxylovou v silně kyselém prostředí kyseliny sírové vzniká červenofialový produkt (Obr. 9). Reakce je vysoce citlivá, stačí pouze stopy kyseliny glyoxylové přítomné ve starší kyselině octové (vzniká tam její oxidací).



Obr.9. Adamkiewiczova reakce

Chemikálie: 2% roztok tryptofanu ve vodě, starší kyselina octová, koncentrovaná kyselina sírová

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety.

Pracovní postup: Do zkumavky s 0,5 ml 2% roztokem tryptofanu přidáme 0,25 ml kyseliny octové. Zkumavku opatrně nahneme a podvrstvíme 0,5 ml koncentrované kyseliny sírové. Po chvíli vznikne na rozhraní dvou kapalin červenofialový prsteneček.

3.1.5. Důkaz amino a imino skupin Ninhydrinová reakce

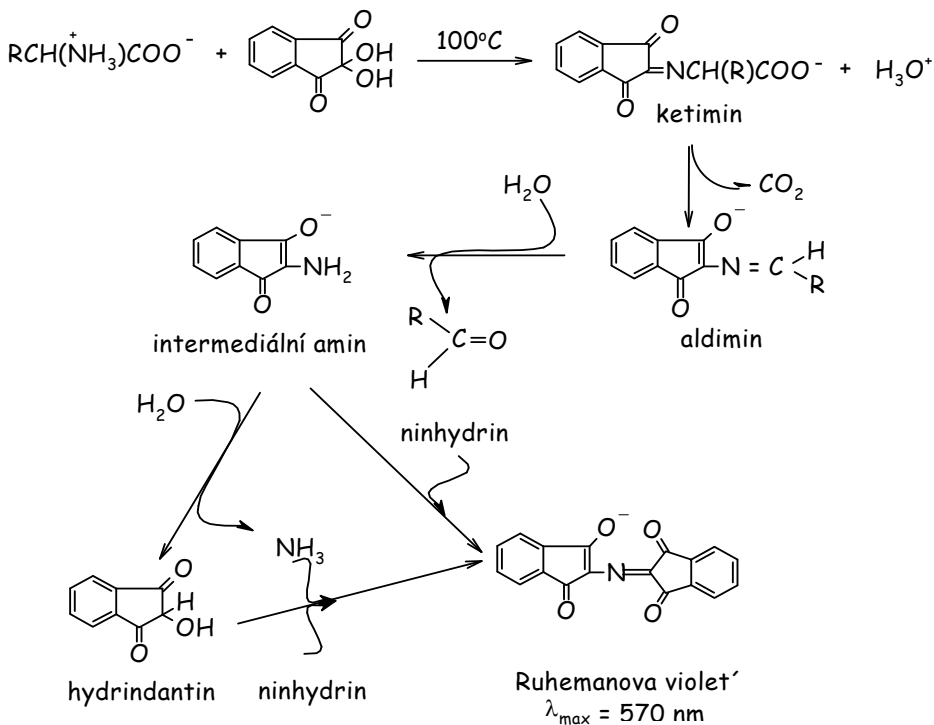
Princip: Oxidačně redukční reakcí ninhydrionu (2,2-dihydroxy-1,3-indandion) s volnými amino a imino skupinami vznikají barevné produkty. S primární aminoskupinou vzniká modrofialový produkt, který se označuje jako Ruhemanova violet' ($\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ nm}$) (Obr.10). Reakcí s iminoskupinami, například u prolinu a jeho derivátu vzniká produkt žlutý ($\lambda_{\text{max}} = 440 \text{ nm}$). V peptidech a proteinech, kde jsou volné aminoskupiny vázány do peptidové vazby, zbývá volná pouze ϵ -aminoskupina lysinu. Proto se pro zvýšení

citlivosti do reakční směsi přidává částečně redukováný ninhydrin, tzv. hydrindantin, který reaguje s reakcí uvolněným amoniakem za výrazného prohloubení zbarvení.

Chemikálie: 2% roztoky aminokyselin ve vodě, 0,2% ninhydrin v ethanolu

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, vaříč, vodní lázeň (hrnec se stojanem na zkumavky).

Pracovní postup: K roztoku 0,5 ml aminokyseliny se přidá 0,3 ml ethanolického roztoku ninhydrinu a zkumavka se povaří na vodní lázni. Vzniká červenofialové zbarvení, prolin poskytuje žluté zbarvení.



Obr. 10. Ninhydrinová reakce

Chemikálie: 2% roztoky aminokyselin ve vodě, 0,2% ninhydrin v ethanolu.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, vaříč, vodní lázeň (hrnec se stojanem na zkumavky).

Pracovní postup: K roztoku 0,5 ml aminokyseliny se přidá 0,3 ml ethanolického roztoku ninhydrinu a zkumavka se povaří na vodní lázni. Vzniká červenofialové zbarvení, prolin poskytuje žluté zbarvení.

3.1.6. Důkaz síry v aminokyselinách

Princip: Aminokyselina cystein a její oxidací vzniklý dimer cystin (Cys-S-S-Cys) působením alkálií uvolňují za tepla sulfan, který lze dokázat srážením rozpustnou olovnatou solí za vzniku černé sraženiny sulfidu olovnatého.

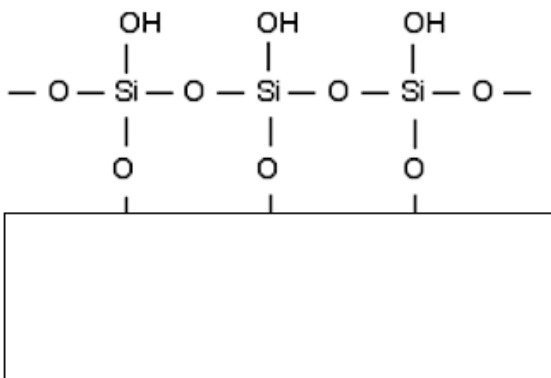
Chemikálie: 2% cystein ve vodě, 0,5% octan olovnatý, 10% hydroxid sodný.

Pracovní postup: Do zkumavky nalijeme 0,25 ml 0,5% octanu olovnatého a 0,25 ml 10% hydroxidu sodného. Nejprve se vytvoří bílá sraženina, kterou rozpustíme dalším přídatkem hydroxidu. Poté přidáme 0,5 ml cysteinu a směs opatrně povaříme. Přítomnost síry v aminokyselině se projeví zhnědnutím až zčernáním.

3.1.7. Důkaz aminokyselin tenkovrstevnou chromatografií (TLC)

Princip: Jednotlivé aminokyseliny se liší v náboji a polaritě. Těto vlastnosti lze využít při tenkovrstevné chromatografii na vrstvě silikagelu.

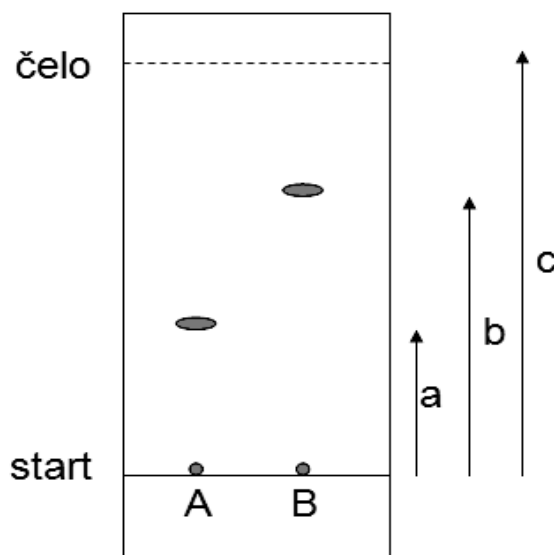
TLC je separační metoda, která odděluje látky ve směsi na základě odlišné afinity jednotlivých složek směsi ke stacionární (nepohyblivé) a mobilní (pohyblivé) fázi. Tenkou vrstvu – stacionární fázi tvoří obvykle silikagel nebo oxid hlinitý), který je nanesen na skleněnou desku, hliníkovou fólii nebo plastovou destičku. Pro praktické cvičení je nejvhodnější použít komerční produkt Silufol, který obsahuje hliníkovou fólii potaženou silikagelem. Silikagel je oxid křemičitý, jehož molekuly jsou zesíťovány přes molekuly kyslíku. Směrem k povrchu destičky jsou na atomy křemíku navázány –OH skupiny. Struktura je patrná z obrázku 11. Navázané –OH skupiny dávají povrchu destičky polární vlastnosti s možností tvorby vodíkových můstků a dalších nekovalentních interakcí se separovanými látkami.



Obr.11. Struktura silufolové desky

Mobilní fázi tvoří směs rozpouštědel, která se nalije do chromatografické vany a do ní se postaví destička s naneseným vzorkem tak, aby byl nad hladinou rozpouštědla. Chromatografická vana se uzavře (obvykle se zakryje skleněnou deskou), aby došlo

k nasycení prostoru parami rozpouštědla. Mobilní fáze vzlíná po desce směrem vzhůru a unáší sebou analyzovaný vzorek. Rychlost, jakou je unášen vzorek směrem vzhůru, závisí na rozpustnosti v mobilní fázi a na stupni interakce s fází stacionární. Čím je afinita vzorku ke stacionární fázi větší, tím pomaleji vzorek stoupá vzhůru. Když rozpouštědlo dorazí do $\frac{3}{4}$ destičky, vyjme se desku z chromatografické vany a pozice rozpouštědla se označí tužkou jako čelo. Schéma destičky je uvedeno v obrázku 12. Poté se změří vzdálenosti jednotlivých látek od startu a pro každou látku se vypočítá tzv. retenční (retardační) faktor Rf. Tato hodnota uvádí, jak daleko analyzovaná látka zůstává za čelem rozpouštědla. Hodnota Rf je pro každou látku v daném systému charakteristická. Pokud se nejedná o látky barevné, je třeba zviditelnit. Když se jedná o látku fluorescenční, lze ji zviditelnit pomocí UV lampy. Často je třeba pro zviditelnění provést detekci pomocí chemických látek (činitel). Chromatografická destička se postříká činidlem (například pro aminokyseliny ninhydrinem), které zreaguje s látkami na barevné produkty.



Obr. 12. Schéma destičky TLC

Detekce aminokyselin tenkovrstevnou chromatografií

Princip: Jednotlivé aminokyseliny se liší v náboji a polaritě. Této vlastnosti lze využít při tenkovrstevné chromatografii na vrstvě silikagelu.

Chemikálie: 2% roztoky aminokyselin ve vodě, mobilní fáze ethanol-voda (7:3), 0,2% ninhydrin v ethanolu.

Materiál: Silufol, chromatografická vana se sklem na překrytí, elektrický fén, rozprašovač aerosolu, tužka, pravítko, špičky pro nanášení vzorků, sušárna.

Pracovní postup: Na Silufolu vyznačíme tužkou jemně slabou čáru 2,5 cm od okraje (start). Jednotlivé vzorky aminokyselin nanášíme buď tenkou kapilárou nebo špičkou, vždy 3-4 kapky na stejné místo a průběžně sušíme fénem, aby nedošlo k rozpití skvrny. Skvrny vzorků nesmí být větší jak 3-5 mm. Fólii vložíme do chromatografické vany s mobilní fází tak, aby mobilní fáze vstupovala na fólii u startu. Jakmile se čelo dostane do vzdálenosti 2 cm od konce fólie, destičku vyjmeme, označíme čelo a fólii vysušíme na vzduchu. Poté ji postříkáme aerosolem ninhydrinu a zahřejeme v sušárně 10 minut při 110°C.

Vyhodnocení: Do tabulky zapíšeme hodnoty R_f standardních aminokyselin a hodnotu neznámých aminokyselin. Porovnáme hodnoty R_f a barvu skvrn.

3.2. Důkaz a stanovení bílkovin

3.2.1. Xanthoproteinová reakce

Princip: Xanthoproteinová reakce spočívá v nitraci aromatického jádra příslušných aromatických aminokyselin v bílkovině (tryptofan, tyrozin, a fenylalanin). Působením kyseliny dusičné nastává nitrace aromatického jádra za vzniku žlutých nitrosloúčenin. Nitrosloúčeniny absorbují fotony modrého spektra, a proto mají žlutý charakter (doplňková barva modré je žlutá).

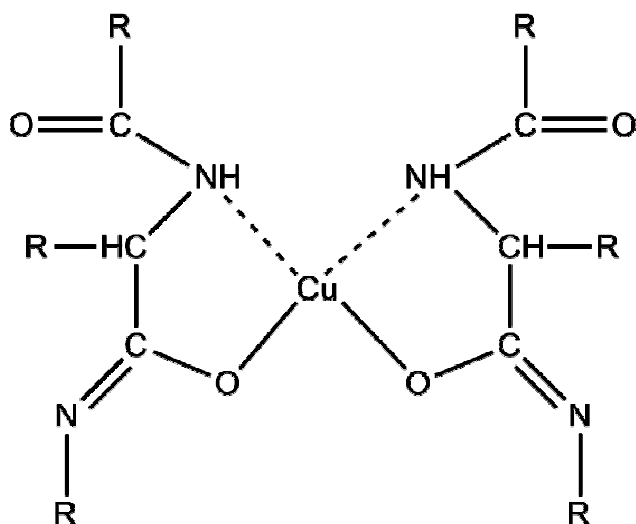
Chemikálie: roztok vaječného bílku (v 50 ml vody), koncentrovaná kyselina dusičná, koncentrovaný amoniak.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, hrnec, vařič, stojan na zkumavky do hrnce.

Pracovní postup: Do zkumavky napipetujeme 2 ml roztoku vaječného bílku a přidáme 1 ml koncentrované kyseliny dusičné a povaříme 5 minut na vodní lázni. Vznikne žlutá sraženina. Po vychladnutí se do zkumavky přidají 2 ml koncentrovaného amoniaku. Po dosažení alkalické reakce, bude směs oranžová.

3.2.2 Biuretova reakce

Princip: Měďnaté ionty vytvářejí v alkalickém prostředí s peptidovou vazbou komplexní sloučeniny (Obr.13). Vzniklý komplex silně absorbuje světlo v oblasti 540-560 nm. Biuretovou reakci poskytují látky, které mají v molekule alespoň dvě peptidové vazby (-CO-NH-) nebo dvě skupiny $-CO-NH_2$. Reakce není specifická jen pro bílkoviny. Nejjednodušší sloučenina, která reaguje s měďnatými solemi v alkalickém prostředí je biuret (kondenzační produkt močoviny), který obsahuje dvě peptidové vazby. Aminokyseliny ani dipeptidy nereagují.



Obr. 13. Komplex bílkoviny s mědí.

Chemikálie: roztok vaječného bílku ve vodě (50 ml vody), 10% NaOH, 5% CuSO₄, krystalky močoviny.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, kádinka, skleněná tyčinka, hrnec, vaříč, stojan na zkumavky do hrnce, pH papírky, kahan, držák na zkumavku.

Pracovní postup: Do zkumavky dáme 2 ml roztoku vaječného bílku a přidáme 2 ml 10% NaOH. Promícháme a po kapkách přidáváme 5% CuSO₄ až do vzniku modrofialového zbarvení.

Pracovní postup s močovinou: Do suché zkumavky dáme 0,5 g močoviny a opatrně zahříváme nad plamenem. Po chvíli začne unikat amoniak, který lze poznat čichem nebo detekovat pomocí pH-papírku. Po vychladnutí se do zkumavky přidá 1 ml 10% NaOH a několik kapek roztoku 5% CuSO₄. Reakce má název podle biuretu, který vzniká reakcí dvou molekul močoviny za odštěpení amoniaku a ten dává s měďnatou solí fialový komplex.

3.2.3. Důkaz bílkovin pomocí kyseliny sulfosalicylové

Princip: Kyselina sulfosalicylová sráží bílkoviny za vzniku zákalu až sraženiny.

Chemikálie: vaječný bílek, ledová kyselina octová, 20% kyselina sulfosalicylová.

Materiál: kádinka, stojan s filtračním kruhem, nálevka, filtrační papír, pipety, stojan se zkumavkami.

Pracovní postup: Vaječný bílek rozmixujeme v kádince s 50 ml vody a přefiltrujeme. 3 ml přefiltrovaného roztoku dáme do zkumavky, přidáme 3 kapky ledové octové kyseliny a 6 kapek 20% kyseliny sulfosalicylové. V roztoku pozorujeme zákal nebo sraženinu, což je důkaz přítomnosti bílkovin.

3.2.4. Důkaz dusíku a síry v bílkovinách

Princip: Zahříváním roztoku bílkoviny v prostředí hydroxidu sodného se uvolňuje amoniak, který lze dokázat univerzálním pH-papírkem. Roztok bílkoviny s dusičnanem olovnatým po zahřátí vytvoří černou sraženinu PbS, tím dokážeme přítomnost síry v bílkovině.

Chemikálie: roztok vaječného bílku ve vodě (v 50 ml), 10% NaOH, 5 % Pb(NO₃)₂.

Materiál: stojan se zkumavkami, pipety, hrnec, vaříč, stojan na zkumavky do hrnce, pH-papírky.

Pracovní postup:

Důkaz dusíku: Ke 2 ml roztoku bílku ve zkumavce přilejeme 2 ml 10% NaOH a směs rozdělíme do dvou zkumavek. První zkumavku opatrně zahřejeme k varu. K ústí zkumavky přiložíme univerzální pH-papírek a červeno-fialové zbarvení indikátoru dokazuje přítomnost amoniaku. Tím v bílkovině dokážeme dusík.

Důkaz síry: Do druhé zkumavky přilejeme 2 ml roztoku Pb(NO₃)₂ a směs opatrně zahříváme. Vzniká černá sraženina PbS, to je důkaz přítomnosti síry v bílkovinách.

3.2.5. Důkaz bílkoviny (keratinu) ve vlasech

Princip: Měďnaté ionty v alkalickém prostředí vytvářejí s peptidovou vazbou fialové komplexní sloučeniny.

Chemikálie: 10% NaOH, 1% CuSO₄.

Materiál: vlasy, zkumavka, hrnec se stojanem na zkumavky, vaříč, pipety.

Pracovní postup: Chomáček vlasů povaříme s roztokem 10% NaOH. Po vychladnutí přidáme po kapkách roztok 1% CuSO₄. Vznikne modrofialové až červenofialové zbarvení, což dokazuje přítomnost keratinu – bílkoviny ve vlasech.

3.2.6. Důkaz bílkoviny (lepku) v mouce

Úvod: Lepek, jinak také zvaný gluten, je směs dvou bílkovin, gliadinu a gluteninu, které se nacházejí společně se škrobem v endospermu semen některých obilovin, především pšenice, žita a ječmene. Množstvím lepku je dána kvalita pšeničné mouky a kvalita těsta z ní vytvořeného. Dobrý lepek dává těstu pružnost a gumovost. U malé části lidské populace se projevuje nesnášlivost lepku, tzv. celiakie. Lepek je také jedním z alergenů. V případě celiakie je třeba dodržovat bezlepkovou dietu.

Princip: Měďnaté ionty v alkalickém prostředí vytvářejí s peptidovou vazbou fialové komplexní sloučeniny.

Chemikálie: mouka, staré pečivo, ethanol, 10% NaOH, 1% CuSO₄.

Materiál: zkumavky, stojan s filtračním kruhem, nálevka, filtrační papír, pipety.

Pracovní postup: 1 g mouky nebo starého chleba zalijeme ve zkumavce 5 ml ethanolu a 5 minut protřepáváme. Necháme ustát a přefiltrujeme přes papírový filtr. Filtrát zahříváme na vodní lázni až se vytvoří sraženina. Sraženinu oddělíme od roztoku filtrací a provedeme biuretovou reakci. Sraženinu přemístíme do zkumavky a přidáme 2 ml 10% NaOH a 10-15 kapek 1% roztoku CuSO₄. Vznikne modrofialové zbarvení, což je důkaz bílkoviny (lepku) v mouce.

3.2.7. Důkazy bílkovin v lidské moči

Úvod:

Analýza moče má značný význam zejména pro posuzování funkce ledvin, ale i jiných orgánů (jater, pankreatu atd.). Kvalitativní vyšetření moče se provádí pomocí diagnostických proužků, indikátorových tablet nebo zkumavkovými reakcemi. Hlavní parametry, které se určují při kvalitativním nebo kvantitativním stanovení moče jsou pH, bílkoviny, glukosa, acetonové látky, bilirubin, urobilinogen, nitrity a leukocyty.

Stav, při kterém jsou běžné zkoušky na přítomnost bílkovin pozitivní, se nazývá proteinurie. Hlavní složkou proteinurie je albumin. Příčinou patologické proteinurie jsou chronické záněty ledvin, nefrózy, horečnatá onemocnění, těžké srdeční a cévní choroby, požití toxických látek a léčiv (sulfoamidy, opiáty, sloučeniny kadmia a rtuti aj.).

3.2.7.1. Stanovení bílkovin v moči kyselinou sulfosalicylovou

Princip:

Bílkoviny se v moči vysráží kyselinou sulfosalicylovou, což se projeví zákalem až sraženinou. Pokud není moč čirá, vzniklý zákal porovnááme se zákalem ve druhé zkumavce, kterou pouze okyselíme kapkou kyseliny octové.

Chemikálie: 20 % roztok kyseliny sulfosalicylové, 30% kyselina octová.

Materiál: moč, zkumavky, stojan, filtrační kruh, nálevka, filtrační papír.

Pracovní postup: k 2-3 ml čiré nebo přefiltrované moči přidáme 3-5 kapek 30 % kyseliny octové (pH asi 4,6). Pak přidáme po kapkách asi 10 kapek 20% kyseliny sulfosalicylové. Vzniklý zákal hodnotíme proti tmavému pozadí a v bočním světle podle tabulky 3.

Tabulka 3. Stanovení bílkovin kyselinou sulfosalicylovou

	Koncentrace bílkovin (g.l ⁻¹)	Hodnocení v arbitrálních jednotkách	Hodnocení křížky
Bez zákalu	< 0,1	0	Negativní
Zákalem lze číst text	0,1–0,25	1	+
Nelze číst text (bez vloček)	0,25–2,0	2	++
Mléčný zákal až vločky	2-4	3	+++
Tvarohovitá sraženina	Více jak 4	4	++++

3.2.7.2. Helerova zkouška - důkaz bílkovin v moči

Princip: Bílkoviny se denaturují koncentrovanou kyselinou dusičnou.

Chemikálie: 30% kyselina octová, konc. HNO₃.

Materiál: zkumavky, Pasterovy pipety.

Pracovní postup: Asi na 1 ml koncentrované HNO_3 navrstvíme po stěně zkumavky moč, okyselenou 30 % kyselinou octovou.

Hodnocení: Pozitivní reakce se projeví bílým prstencem na rozhraní. Někdy může vzniknout až sraženina. Zelený prsteneček ukazuje přítomnost bilirubinu, červeně hnědý na přítomnost močových barviv (vzniká velmi často, nehodnotí se).

3.2.7.3. Zkouška varem na přítomnost bílkovin v moči

Princip: Bílkoviny se v prostředí octanového pufru varem denaturují. Podle koncentrace bílkovin vzniká zákal až sraženina.

Chemikálie: 2,0 M octanový pufr, $\text{pH} = 4,6$ (56,5 ml kyseliny octové a 11,8 g octanu sodného doplníme do 1000 ml destilovanou vodou).

Pracovní postup: k 5 ml moče přidáme 0,5 ml octanového pufru a protřepeme. Povaříme asi 1 minutu. V případě pozitivní reakce vzniká zákal až sraženina.

Hodnocení: stejné jako u stanovení kyselinou sulfosalicylovou.

3.2.7.4. Důkaz bílkovin v moči pomocí diagnostických proužků Heptaphan

Princip:

Diagnostické proužky využívají proteinovou chybu speciálního indikátoru, který se při $\text{pH} < 3,5$ barví jasně žlutě. Při pH vyšším dochází ke změně zbarvení přes zelenou až do modré. $\text{pH} < 3,5$ zajišťuje pufr obsažený v indikační zóně. Přidáme-li bílkovinu, váží se H^+ na zásadité skupiny proteinů a zbarvení přechází do zelena až modra (stejný efekt jako při zvýšení pH). Je-li moč bez bílkoviny, zóna je jasně žlutá. Když je přítomna bílkovina, zóna je zelená až modrá (stejně jako by došlo ke změně pH a nikoliv k přidávku bílkovin).

Materiál: diagnostické proužky, které lze zakoupit ve zdravotnických potřebách nebo objednat v některých lékárnách nebo přes internet.

Pracovní postup: proužek ponoříme asi na 1 s do moče, oťreme o okraj zkumavky. Ihned odečteme pH a po 1 minutě proteinurii. Stanovení sice není ovlivňováno hodnotou pH , ale při pozitivním výsledku a pH větším jak 8 okyselíme moč zředěnou kyselinou octovou na $\text{pH} = 5-6$ a stanovení opakujeme, protože někdy moče s vysokou tlumivou kapacitou nebo extrémně alkalickým pH dávají falešně pozitivní výsledky i v nepřítomnosti bílkovin.

Hodnocení: Chybné výsledky můžeme získat, pokud proužek ponoříme příliš dlouho a dojde k vymytí pufru, pokud proužek nebyl uchováván v uzavřeném pouzdře nebo se ve zkumavkách vyskytovaly zbytky konzervačních nebo dezinfekčních činidel. Když je moč příliš alkalická, může dojít k vyčerpání tlumivé kapacity proužku a papírek pak reaguje pouze na změnu pH . Chybné výsledky můžeme získat také u pacientů, kterým byly podávány chininové preparáty nebo léčiva na bázi chinolinů či alkaloidy. Ruší také přítomnost amoniaku v ovzduší či bílé zářivkové osvětlení, které může zkreslovat a dávat falešně negativní výsledky.

3.3. Důkaz krevních skupin pomocí protilátek

Úvod: Čtyři krevní skupiny objevil Karl Landsteiner v roce 1900 a na něm nezávisle český psychiatr J. Janský a označil je písmeny **A**, **B**, **AB** a **O**. Základní krevní skupiny A, B, AB a 0 jsou určeny řadou alel, které jsou děděny autozomálně podle Mendelových zákonů. Jednoduchých zákonitostí dědičnosti krevních skupin se využívá v paternitních

a maternitních sporech a při zjišťování jedno- a dvouvládnosti dvojčat. Příslušnost k určité krevní skupině lze zjistit i ze zaschlých krevních skvrn, z jiných tkání a i ze sekretů (spermatu, slin apod.).

Princip:

V membránách červených krvinek jsou různé antigeny, zvané aglutinogeny. Nejznámější jsou A a B. Pokud je přítomen aglutinogen A, hovoří se o erythrocytech skupiny A, při přítomnosti aglutinogenu B se mluví o erythrocytech skupiny B. Při přítomnosti aglutinogenů A i B jsou to erythrocyty skupiny AB a při nepřítomnosti aglutinogenů jsou to erythrocyty skupiny 0. V krevní plazmě se vyskytují protilátky aglutininů (anti-A a anti-B). V následující tabulce 4 jsou uvedeny krevní skupiny v souvislosti se zastoupením či nezastoupením aglutinogenů a aglutininů. Aglutinační reakce nastane, setká-li se aglutinogen A s anti-A nebo aglutinogen B s aglutininem anti-B. Při transfúzi krve lze použít jen krev stejné skupiny.

Tabulka 4. Krevní skupiny

Krevní skupina	Aglutinogeny (v erythrocytech)	Aglutininů (v krevní plazmě)	% zastoupení v naší populaci
A	A	anti-B	42
B	B	anti-A	12
AB	A i B	-	8
0	-	anti A i anti B	38

K určení krevní skupiny slouží dvě monoklonální diagnostika (Anti-A a Anti-B), která obsahují myší IgM protilátky (vhodná alternativa k polyklonálním protilátkám). Principem testu je aglutinační technika, která je založena na reakci antigen-protilátka.

Materiál: set pro stanovení krevní skupiny ABO SET MP (firma EXBIO), lze zakoupit v lékárně (na objednávku). Souprava obsahuje diagnostika Anti-A a Anti-B, testovací karty a tyčinky.

Pracovní postup: Na připravenou diagnostickou kartu (součást vyšetřovací soupravy) Obr. 14 se kápne do modrého kroužku (vpravo) 1 kapka monoklonálního diagnostika Anti A a do žlutého kroužku (vlevo) 1 kapka monoklonálního diagnostika Anti B. Do červených kroužků (menší kroužky) se kápne po jedné kapce krve vyšetřované osoby. Přiloženými tyčinkami se promíchají monoklonální diagnostika s kapkami krve, a to každý vzorek samostatným koncem tyčinky.

PACIENT: _____
Rodné číslo: _____

Krevní sk. pacienta: _____

Anti-A **Anti-B**

Krevní sk. konzervy: _____

KR. KONZ. Č.: _____
Krevní skupina: _____

Datum: _____

1. Do příslušných barevných kroužků kápněte po 1 kapce diagnostika Anti-A resp. Anti-B.
2. Do červených kroužků kápněte po 1 kapce krve pacienta (v horní polovině kartičky), resp. krevní konzervy (v dolní polovině kartičky).
3. Tyčinkou promíchejte kapky krve a diagnostik.
4. Do jedné minuty odečtáte.

Reakce s diagnostikem		Krevní skupina
Anti-A	Anti-B	
+	-	A
-	+	B
+	+	AB
-	-	0

Obr.14. Testovací karta

Hodnocení: Pozorujeme shlukování částic (erythrocytů) v jedné z obou kapek nebo v obou kapkách, kterému se říká aglutinace. Podle toho, kde dojde k aglutinaci, vyhodnotíme podle karty krevní skupinu. Pokud aglutinace nevzniká se žádným monoklonálním diagnostikem, jedná se o krevní skupinu 0.

4. Závěr

Naším cílem je seznámit čtenáře s nejdůležitější skupinou látek v biochemii, a to s bílkovinami. Vedle základních informací o proteinech, které jsou shrnuty na prvních stránkách kapitoly, je další část zaměřena na specifickou skupinu bílkovin, a to protilátky. Protilátky hrají významnou roli při ochraně a obraně lidského těla před infekčním onemocněním, ale jsou také významným analytickým nástrojem při důkazu a stanovení velkého množství složitých látek ale i mikroorganismů v biologických tekutinách. V experimentální části jsou uvedeny chemické pokusy, které je možno provádět ve školních laboratořích. Část pokusů je zaměřena na důkaz bílkovin v moči a stanovení krevní skupiny pomocí setu na principu protilátek.

5. Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu OPVK „Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědecko výzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

6. Použitá literatura

1. Zajoncová L. (2004) *Praktická cvičení z klinické biochemie pro biochemiky*. Univerzita Palackého v Olomouci, 1. vydání.
2. Goldsby R.A., Kindt T.J., Osborne B.A. (2000). *Kuby Immunology*. New York, E.H. Freeman and Company.
3. Peč. P. (2004) *Laboratorní cvičení z biochemie*. Univerzita Palackého v Olomouci, 2. vydání.
4. Ferenčík M. (1989) *Imunochémia*. Bratislava, Alfa.

KRÁTKÁ EXKURZE DO SVĚTA NANOTECHNOLOGIÍ – MILNÍKY, OSOBNOSTI, MATERIÁLY A PRODUKTY

Jana Soukupová

Katedra fyzikální chemie, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, Olomouc 741 36, Česká republika. E-mail: j_soukupova@post.cz

Abstrakt

V současné době patří chemie mezi poměrně neoblíbené předměty. Není to ale proto, že by snad byla pro studenty méně atraktivní než tradičně oblíbenější biologie. Důvod bývá prostý. Jde především o chápání této vědy jako izolované vědní disciplíny. Navíc její minimální atraktivita souvisí i s její výukou, která většinou nezahrnuje současná témata. Oba problémy by ovšem mohly být alespoň částečně vyřešeny zahrnutím tématu nanotechnologie do výuky. Tato vědecky velmi zajímavá oblast se může stát jak tématem pro výklad v klasických hodinách chemie či biologie, tak náplní laboratorního cvičení a přinést na střední školy diskusi formou tzv. brainstormingu. Tento text je koncipován tak, aby vyučujícím na středních školách přinesl podkladové informace o rozličných nanomateriálech, jejich využití a možné toxicitě. Zároveň ale přináší informace o způsobech jejich charakterizace a v neposlední řadě také nabízí návod na laboratorní cvičení umožňující laboratorní přípravu nanočástic stříbra a jejich studium z hlediska agregační stability.

Klíčová slova: nanotechnologie, nanočástice, koloid, stříbro, zlato, železo, oxidy železa, fullereny, uhlíkové nanotrubičky

1. Úvod

V dnešním světě je pojem „nanotechnologie“ neustále používanější, ale obsah a dosah tohoto obyčejného sedmislabičného slova bývá často člověku, který jej používá, skrytý. Obecně lze říci, že jsou to technologie, které umožňují přípravu/produkcí a využití materiálů, které spadají do tzv. nanooblasti. Nanomateriály se sice v přírodě vyskytují od nepaměti a také jsou od této doby lidmi využívány, ale až druhá polovina dvacátého století přinesla jejich masivní výzkum, inovativní aplikaci a neodmyslitelnou produkci. Ale proč právě až dvacáté století? Teprve rozvoj sofistikovaných technik, jakými jsou například transmisní elektronová mikroskopie (TEM), skenovací elektronová mikroskopie (SEM), mikroskopie atomárních sil (AFM) aj., nabídnul možnost studovat tyto materiály „pod drobnohledem“. Rozvoj v oblasti syntézy a aplikace na sebe nenechal dlouho čekat. V současné době jsou tedy již komerčně dostupné stovky produktů obsahující nanomateriály, protože jejich unikátní vlastnosti mohou výrazným způsobem ovlivnit řadu vlastností (např. mechanické, chemické, fyzikální atd.) výsledného produktu. Nicméně euforie z těchto produktů se pomalu vytrácí na nastupuje mírná skepse, a to především mezi odborníky na slovo vzatými – především však mezi ekology, toxikology či biology. Tímto způsobem také dochází k ustanovení zcela nových vědeckých disciplín, jakými jsou například nanotoxikologie nebo nanoekologie. Přesto není toxicita produktů obsahující rozličné nanomateriály doposud zcela prostudována.

2. Definice – koloidní versus nano, nanotechnologie

Koloidní systémy jsou systémy, které obsahující částice ve velikostním rozsahu od 1 nm po 1000 nm. V rámci těchto systémů byly poté vymezeny systémy obsahující pouze



Obrázek 1: Michael Faraday

částice o velikosti od 1 nm po 100 nm (pozn. o těchto systémech bude dále ve větší míře pojednáno v následujícím odstavci). Koloidní systémy byly sice systematicky studovány již v polovině devatenáctého století italským chemikem Francesco Selmim, ale tento vědec, ale zůstal ve stínu osobnosti, která dala chemii obecně mnohem více, ve stínu Michaela Faradaye. Právě tento vědec položil základy koloidní nomenklatury a je až neuvěřitelné, že některé jím připravené koloidní systémy zlata jsou dodnes k zhlédnutí v Britském Muzeu v Londýně.¹ Ale nebyl to ani tento velíkán, kdo poprvé v roce 1861 použil pojem „koloid“. Autorem tohoto pojmenování je Thomas Graham.² Ovšem v devadesátých letech dvacátého století je upouštěno od studia těchto systémů, protože velikostní rozsah 1-1000 nm je příliš velký. V této době dochází k masivnímu výzkumu

pouze jedné specifické oblasti – tedy 1-100 nm – protože právě materiály s těmito částicemi nabízí inovativní vlastnosti výsledného produktu.

Nanotechnologie je pojem, se kterým se v současné době setkáváme poměrně často, ale přesto je složité jej definovat. Bez obav ale můžeme říci, že se jedná o technologie umožňující produkci a manipulaci s materiály spadající do tzv. nano oblasti. Definice nanomateriálu je poté ale o poznání složitější. Přestože byla dříve obecně přijímána definice říkající, že nanomateriály jsou materiály s unikátními vlastnostmi, které mají rozměry menší než 100 nm, dnes už tomu tak není. Kdyby tomu totiž tak bylo i dnes, například uhlíkové nanotrubičky, tedy materiál s délkou trubičky v desítkách až stovkách mikrometrů, by nemohly být používány za nanomateriál. Nejen kvůli tomuto materiálu byla tedy definice upravena a je upravována až do dneška. Nanomateriály jsou v současné době definovány jako materiály, které splňují podmínku velikosti v jednotkách až stovkách nanometrů alespoň v jedné dimenzi. Navíc musí mít tento materiál inovativní vlastnosti oproti materiálu stejného složení, ale mající makro charakter. Nově je zaváděn jiný parametr, který by mohl lépe a přesněji charakterizovat tyto materiály, a to tzv. specifický povrch. Pouze materiál mající specifický povrch $20 \text{ m}^2/\text{g}$ a větší lze označit za nanomateriál.³

3. Historické milníky a osobnosti

V úvodu bylo řečeno, že nanomateriály jsou lidmi využívány již od nepaměti. Je až s podivem, že pozůstatky pravděpodobně jedněch z prvních koloidních pigmentů (tzn. pigmentů obsahující částice o velikosti desítek až stovek nanometrů) můžeme nalézt v jeskyních Lascaux ve Francii, kde byly použity k barevné výzdobě stěn. Tyto barevné fresky pochází z doby kamenné.² Také faraónové ve starověkém Egyptě hojně využívali

tento druh barev k záznamům událostí, které se na stěnách hrodek dochovaly taktéž dodnes. Mnoho prvotních „technologických procesů“, jako například výroba keramiky a později porcelánu, výroba papýrů a poté papíru, produkce mýdla a kosmetických přípravků, by se neobešlo bez manipulace se systémy obsahující částice miniaturních rozměrů.

Výsadní postavení mezi systémy, využívanými od starověku, mají bezesporu systémy obsahující nanočástice či koloidní částice vzácných kovů. Za zmínku bezesporu stojí, že například zlato ve formě koloidní disperze bylo používáno k barvení skla a keramiky. Sklo obsahující tyto částice má rubínovou barvu. V současné době jsou tyto částice neustále využívány např. k lékařským účelům. Dalším materiálem, který byl využíván téměř „od nepaměti“ je další vzácný kov – stříbro. Tento lesklý kov či jeho sloučeniny byly používány již starými Egypťany nejen ve šperkařství, ale také kvůli unikátním antibakteriálním vlastnostem.⁴ Díky své antibakteriální aktivitě mohou být nanočástice stříbra využívány i v současném lékařství, jako povrchová modifikace kloubních náhrad a jiných zdravotnických potřeb (obvazy, náplasti, respirační roušky).⁵ Nanočástice stříbra nalezly využití ve farmacii a kosmetice (gely, zubní kartáčky, masti)



Obrázek 2: Různé produkty obsahující nanočástice stříbra.

domácích spotřebičů, mohou být použity i k odstranění mikroorganismů na textiliích nebo i pro úpravu vody.⁷ Některé materiály byly využívány již od starověku a zkušenosti s jejich přípravou a použitím byly předávány z generace na generaci. Kdo ale byl tím, kdo jako první dokázal předpovědět existenci řady materiálu, které v té době neměly konkrétní použití? O prvenství v této oblasti se dělí dva muži. Jedním je Norio Taniguchi. Je to japonský vědec, který jako první použil slovo „nanotechnologie“. Druhou, a patrně známější osobností, je fyzik Richard Feynman, který v roce 1959 přednesl převratnou přednášku na Kalifornském technickém institutu (Caltech). Název přednášky byl poměrně prostý: „There is Plenty of Room at the Bottom“ (pozn. Tam dole je spousta místa), ale předznamenal oblast vědeckého zájmu na celá následující desetiletí. Již

a dokonce pronikly do textilního průmyslu, kde se vyrábějí například ponožky těmito částicemi modifikované.⁶ Posledně jmenovaný produkt byl dříve vyráběn pouze pro armádní účely, ale v dnešní době jsou již běžně dostupné široké veřejnosti. Ponožky modifikované nanočásticemi stříbra by měly zbavit spoustu lidí problémů, které souvisí se zapáchajícími nohami. Právě antibakteriální efekt nanočástic stříbra zamezuje tvorbě bakterií na nohou, které jsou za tento problém zodpovědné.⁶ Nanočástice stříbra se staly také součástí

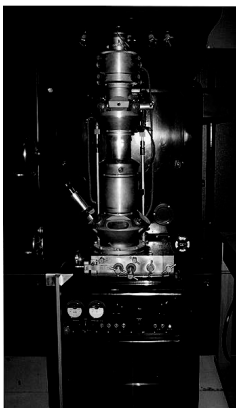
v tomto roce promluvil Richard Feynman o materiálech, které měly být vyrobeny a použity až třeba po padesáti letech.⁸



Obrázek 3: Richard Feynman

pány Robertem F. Curllem, Richardem E. Smalleyem a Haroldem W. Krotem. Teprve ale až v roce 1996 byla všem objevitelům udělena Nobelova cena.⁸

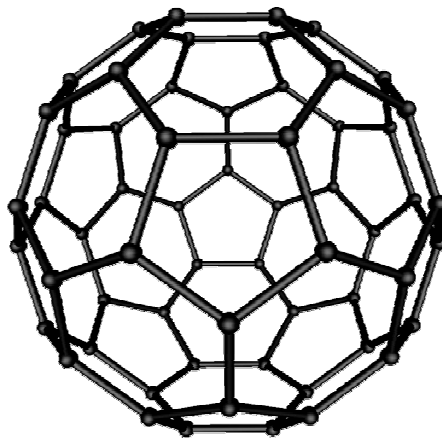
Další osobností, která se zásadním způsobem zasloužila o krok vpřed v oblasti nanomateriálů a nanotechnologií, je bezesporu vynálezce jedné z dnes nejčastěji používaných charakterizačních technik – vynálezce transmisního elektronového mikroskopu. Byl jím německý fyzik Ernest A. F. Ruska. Potřeba tohoto nástroje je úzce spjata s faktem, že objekty nebo-li nanoobjekty není možné studovat



Obrázek 5:
První elektronový mikroskop

Další osobností, kterou je nutné zmínit, mluvíme-li o nanotechnologiích a nanomateriálech, je překvapivě architekt. Ne, skutečně nejde o tiskovou chybu. Jedná se o amerického architekta Buckminstra Fullera, který je autorem principu tzv. geodetických kopulí, se kterým přišel roku 1947. Na základě této inovativní struktury byla poté navržena struktura navzájem propojených pěti a šestiúhelníkových cyklů uhlíku připomínající svým tvarem kopací míč. Na základě podobnosti se strukturou navrženou Fullerem a kopacím míčem je struktura obsahující 60, 76 či 100 uhlíků dnes obecně nazývána „bucky ball“. (obr. 4)

Fullereny
byly
objeveny
v roce 1985

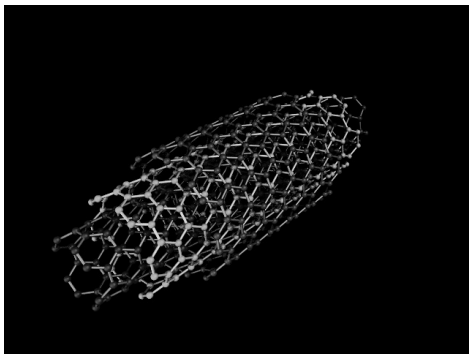


Obrázek 4: Fulleren C_{60}

prostřednictvím klasického optického mikroskopu. Limitujícím faktorem u tohoto přístroje, je zdroj, který využívá pro svá zobrazení, tedy světelný zdroj. Uspořádání elektronového mikroskopu ale do jisté míry koresponduje s uspořádáním optického mikroskopu. „Jen“ bylo nutné nahradit fotony rychle letícími elektrony a klasické skleněné čočky čočkami elektromagnetickými. Tak bylo tedy dosaženo možnosti zobrazovat objekty daleko menší než je tomu u optického mikroskopu. Dnešní TEM mikroskopy umožňují studovat objekty v řádech jednotek nanometrů. Závěrem je určité nutné zdůraznit, že objev elektronového mikroskopu je opět takového významu, že byl oceněn Nobelovou cenou za fyziku, a to v roce 1986.⁹

5. Perspektivní materiály

Uhlík – uhlíkové nanotrubičky. Uhlíkové nanotrubičky jsou poměrně novým materiálem, který byl objeven japonským vědcem Sumio Iijimem v roce 1991 při obloukovém výboji mezi uhlíkovými elektrodami. Přestože jeho původním záměrem byla syntéza fullerenu, po analýze vzorku pomocí transmisního elektronového



Obrázek 6: Trojstěnná uhlíková nanotrubička

nanotrubek, existují jedno-, dvoj- a vícestěnné uhlíkové trubičky. Průměr takové trubičky se pohybuje od cca 1nm do 50 nm a její délka dalece tento rozměr přesahuje. Maximální udávaná délka je 0,3 mm.

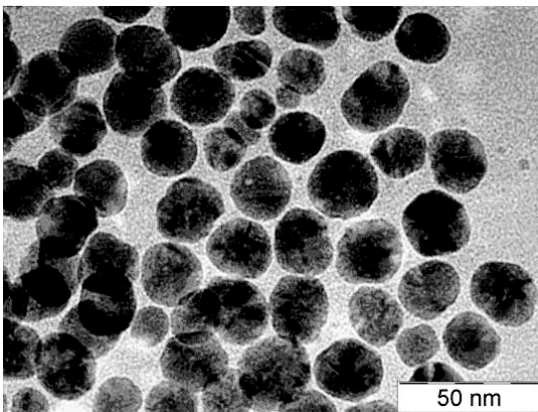
Asi nejzajímavějším aspektem, týkajícím se uhlíkových nanotrubek, je jejich aplikace. Jsou totiž použitelné v mnoha oblastech lidské činnosti. Elektronika je jednou z oblastí, kde uhlíkové nanotrubičky ukazují a ještě do budoucna ukážou svůj velký potenciál. Mohou být využívány jako vodiče, ale i jako PN přechody v tranzistorech. V nedaleké budoucnosti by tak mohly hrát významnou roli v procesu miniaturizace – jako mikroprocesory. Díky své tepelné vodivosti mohou být uhlíkové nanotrubičky použity jako „chladicí medium“. Uhlíkové nanotrubičky totiž mohou např. odvádět teplo z jader procesorů. Nicméně elektronika není jedinou oblastí, kde jsou již dnes nanotrubičky používány. Další možnost aplikace je jako součást konstrukčních materiálů či jako konstrukční materiál sám o sobě. Široká veřejnost může dnes již zcela běžně zakoupit např. tenisové, squashové či badmintonové rakety, rámy cyklistických kol, baseballové pálky obsahující uhlíkové nanotrubičky. Důvodem pro aplikaci tohoto nanomateriálu do sportovních potřeb je vysoká pevnost, ale zároveň lehkost tohoto materiálu. Kromě výše zmíněných aplikačních možností tohoto materiálu je nutné zmínit i další oblast možného využití těchto unikátních struktur, kterou je bezesporu lékařství. Vzhledem k tomu, že je uhlík tělu vlastní, mohlo by být využito uhlíkových nanotrubek, uzavřených z obou stran polovinami fullerenu, jako dopravního prostředku léčiva, které by bylo do kapsula uzavřeno. Nicméně je zapotřebí podotknout, že tento výčet je opravdu velmi stručný, protože se neustále objevují nové a nové oblasti, kde by bylo možné tento vysoce zajímavý materiál použít.¹⁰

mikroskopu zjistil, že syntetizoval podlouhlé útvary, které sám nazval trubkami. Kromě toho Iijim také pozoroval, že jsou tyto útvary mnohovrstevnaté. To bylo hnacím motorem k tomu, aby se snažil přijít i s obdobnou strukturou, jejíž stěna by byla tvořena pouze jednou vrstvou. To se mu ve spolupráci s firmou IBM povedlo o dva roky později, kdy byly poprvé připraveny jedностěnné uhlíkové nanotrubičky.

Uhlíkové nanotrubičky jsou struktury, které jsou tvořené šesticykly v jejichž vrcholech jsou atomy uhlíku. Z hlediska nomenklatury, týkající se

Nanočástice oxidů železa. Železo je biogenním prvkem a především dobře prostudovaným prvkem, který lidstvo využívá již po celá staletí. Určitě není nutné připomínat, že dokonce jedno celé období bylo nazýváno podle tohoto materiálu – tedy doba železná. Nicméně použití železa rozhodně není odstartováno právě touto dobou – již ve starověku byly používány oxidy železa jako pigmenty pro nástěnné výjevy či v rámci rozličných rituálů. Tuto úlohu plní dodnes, ale rozhodně se nejedná o jedinou aplikaci tohoto staronového materiálu. Vzhledem k tomu, že se jedná především o materiály magnetické, lze je využít v mnoha odvětvích, z nichž jmenujme alespoň jako barvivo pro kontrastní zobrazování v oblasti dutiny břišní (tzn. lékařství), nosiče léků či separační činidla. Zajímavé ale je, že zatímco se celé vědecké týmy snaží syntetizovat co nejuniformnější částice (tedy částice, které by byly v celém systému naprosto stejné), jisté bakterie to zvládají bez zapojení sofistikovaných metod či procesů. Existuje totiž tzv. magnetotaktické bakterie, které jsou schopny syntetizovat částice Fe_3O_4 , které jsou naprosto uniformní. Podle konkrétního kmene se liší velikost částic, ale u všech je to v desítkách nanometrů. Tyto bakterie se dopouští syntézy nanočástic ne snad proto, aby je odevzdaly, ale za účelem jejich vlastní orientace v geomagnetickém poli Země. Žijí totiž v bahně, a proto jsou jejich orientační vlastnosti poměrně ztížené. Tyto malé magnetky je ale vždy navedou tím správným směrem.¹¹

Nanočástice stříbra. Stříbro je jedním z nejintenzivněji studovaných kovů v oblasti dnešních nanotechnologií. Nanočástice stříbra se staly objektem výzkumu díky svým specifickým fyzikálně-chemickým a biologickým vlastnostem, které se projevují až právě v rozměrech několik jednotek či desítek nanometrů. V této velikostní dimenzi již stříbro nevykazuje kovový lesk, jak je tomu u stříbra makroskopického, zato vyniká takovými vlastnostmi, které našly široké uplatnění v různých oblastech lidské činnosti. Významné postavení zaujímají nanočástice stříbra v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii, kde lze za jejich asistence detekovat dokonce i jednotlivé molekuly.^{12,13} Svě uplatnění v katalýze¹⁴ nachází díky



velkému specifickému povrchu (v řádu jednotek až desítek m^2/g) a nezůstávají pozadu ani jako biosenzory, využívající povrchového plazmonu těchto částic.^{15,16}

Obrázek 7: Nanočástice stříbra viděna transmissním elektronovým mikroskopem. Použití v mnoha odvětvích lidské činnosti naznačuje, že syntéza, modifikace, stabilizace a

s tím spojená aplikovatelnost nanočástic stříbra je velmi dobře prostudovanou problematikou. Neustále jsou ovšem publikovány další a další odborné články zabývající se právě syntézou a možnými způsoby modifikace s cílem připravit nanočástice stříbra tzv. „na míru“. Tím je míněna velikost částic, jejich velikostní distribuce, morfologie či povrchový náboj. Nanočástice stříbra lze obecně připravit pomocí dvou zcela odlišných syntetických metod – metodami označovanými „top-down“ (překl. dispergační metody)

nebo „bottom-up“ (překl. kondenzační metody). Prvně jmenované dispergační metody jsou založené na dispergaci tzv. bulk materiálu¹⁷ v elektrickém oblouku či pomocí laserového záření. Volbou použitého dispergačního zařízení a média, ve kterém je materiál dispergován, lze připravit nanočástice rozličných velikostí a ostatních částicových charakteristik.¹⁸ Druhá skupina metod využívá naprosto opačný přístup. Místo rozmělnování makroskopického materiálů skládá jednotlivé atomy do finální velikosti několika jednotek nanometrů či desítek nanometrů. Tento druh metod je v současné době, z hlediska aplikovatelnosti a variability, čtenější. Využívá totiž dobře dostupné prekurzory v podobě stříbrných solí (AgNO_3 ^{19,20} etc. či AgClO_4 ²¹) a rozličná redukční činidla, z nichž jmenujme alespoň ta nejpoužívanější - tetrahydridoboritan sodný^{22,23} etc., citrát sodný²⁴, vodík²⁵, hydrazin²⁶, formaldehyd²⁷, redukční sacharid^{28,1} etc. Pomocí volby prekurzoru, redukční látky a jejich koncentrací lze tímto způsobem připravit částice stříbra v řádu od několika jednotek až po stovky nanometrů.

V současné době prožívají nanočástice stříbra opravdovou renesanci. Důvodem je jejich antibakteriální aktivita, která je ceněna především ve světle stále se zvyšující rezistence některých bakteriálních kmenů vůči antibiotikům.⁷ Díky antibakteriální aktivitě mohou být tedy nanočástice stříbra využity v lékařství, jakožto povrchová modifikace protetikých a kloubních náhrad a jiných zdravotnických potřeb (např. obvazy, náplasti, respirační roušky), ve farmacii a kosmetice (např.

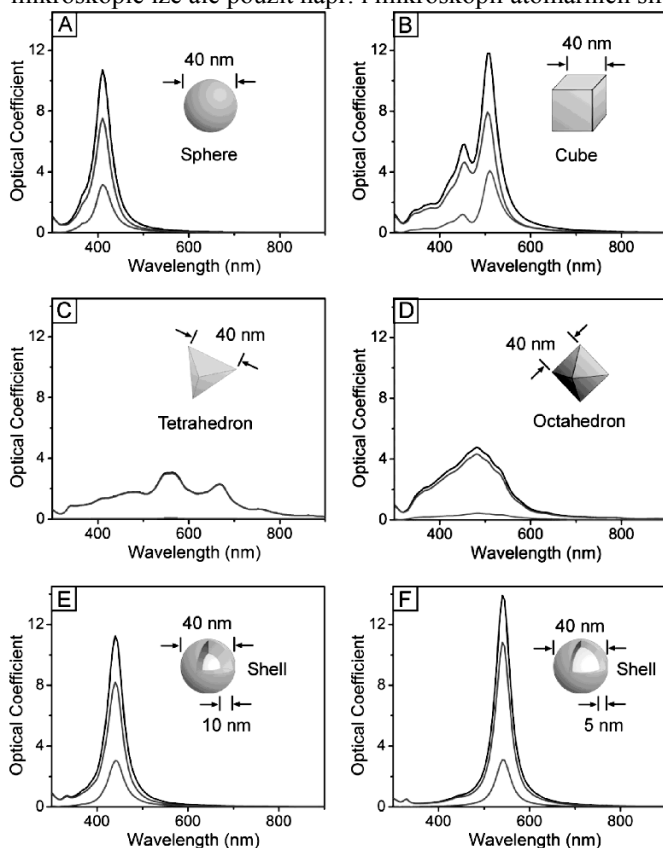


Obrázek 8: Ponožky modifikované nanočásticemi stříbra fy. Nanotrade

masti, gely, zubní kartáčky). Nanočástice stříbra ovšem pronikly i do textilního průmyslu a ponožky obsahující stříbro v nanočásticové podobě, dříve vyvinuté pouze pro armádní účely, jsou dnes běžně k dostání. Tento produkt by měl zbavit spoustu lidí problémů se zapáchajícími nohama, prostřednictvím potlačení bazálního metabolismu bakterií a následného vzniku zapáchajících bakteriálních metabolických produktů. Kromě textilního průmyslu našly nanočástice stříbra uplatnění i v jiných odvětvích, které vyžadují vytvoření jakési antibakteriální ochrany. Nanočástice stříbra se staly součástí domácích spotřebičů²⁹ (chladničky, pračky) nebo slouží také k úpravě pitné vody. Všechny tyto produkty modifikované nanočásticemi stříbra ovšem vykazují „omezenou životnost“, která se dotýká především působení antibakteriálního obalu. Praním či čištěním se nanosená vrstvička „vymývá“ a nejen, že produkt ztrácí svou deklamovanou antibakteriální funkci, ale částice, tímto způsobem uvolněné, se dostávají do životního prostředí. Z tohoto důvodu je aktuálním tématem studia nanočástic stříbra jejich účinek na živé organismy a tím i na naše životní prostředí.

Charakterizace nanomateriálů. Po přípravě jakéhokoliv materiálu je nutné produkt charakterizovat. Tato potřeba tkví v podstatě nanomateriálů – tedy ve faktu, že strukturní a morfologické nuance nejsou pozorovatelné pouhým okem. Pro tyto účely je, jak již bylo řečeno, dokonce i klasický optický mikroskop zcela nedostačující technikou. Z tohoto důvodu byl sestaven transmisní elektronový mikroskop (TEM), který místo fotonů využívá rychle letící elektrony. Charakterizace částic pomocí této metody je ovšem poměrně nákladnou záležitostí, jak po finanční, tak po časové stránce. Již

samotná příprava vzorku pro TEM je na rozdíl od přípravy vzorku pro optický mikroskop, poměrně náročnou procedurou. Rozlišovací schopnost tohoto zařízení je od desetin nanometrů až po desítky mikrometrů, a tak je tato metoda patrně jednou z nejlepších charakterizačních technik. Dostupnost této metody je ale, z výše uvedených důvodů, také poměrně limitovaná dokonce i na univerzitách či ve výzkumných centrech. Obdobnou metodou charakterizace vzorku je metoda skenovací elektronové mikroskopie. Tato metoda nabízí prostorový obraz zkoumaného materiálu. Opětovně se jedná o metodu velmi finančně a časově náročnou a její použití rozhodně není rutinní záležitostí. Obdobně jako u TEM, i zde je příprava vzorku poměrně složitá a navíc dochází, stejně jako u TEM analýzy, k jeho znehodnocení. Kromě elektronové mikroskopie lze ale použít např. i mikroskopii atomárních sil (AFM).



Obrázek 9: Různé druhy absorpčních spekter charakterizující částice s rozdílným tvarem.

orientační informaci o přítomnosti nanočástic a dokonce i o jejich velikosti či tvaru. Klasickým příkladem jsou různé nanočástice stříbra, tedy částice různých tvarů.^{30,31} (obr. 9) Další metodou, která byla již jednou zmíněna, a která je poměrně rutinně používána, je dynamický rozptyl světla. Opět je to metoda, která je poměrně časově nenáročná a navíc její velikánskou předností je fakt, že se jedná o tzv. nedestruktivní

Z důvodu náročnosti elektronové mikroskopie jsou k charakterizaci nanočástic rutinně používány další metody, které mohou poskytnout informace o částicích v poměrně krátkém čase. Pokud je totiž možné uchovávat syntetizovaný nanomateriál ve vodné popř. nevodné disperzi (tzn. nedochází k jeho sedimentaci, ale zůstává v daném médiu rozptýlen) a navíc vykazuje disperze zabarvení, je možné použít UV-VIS spektroskopii a metodu založenou na dynamickém rozptylu světla (DLS). UV-VIS spektroskopii lze použít pro charakterizaci nanočástic díky existenci

povrchového plazmonu. Pozice absorpčního piku nám tedy může podat

metodu. Tedy o metodu, která nezhodnotí vzorek. Ten je poté možné charakterizovat ještě dalšími technikami. Pro kompletní charakterizaci, tedy zjištění velikosti částic, jejich uniformity ve vzorku (tu charakterizuje tzv. hodnota polydisperzity), povrchového náboje částic (tzn. hodnoty zeta potenciálu) postačí cca 20 minut a 5 ml vzorku disperze.

5. Toxicita nanomateriálů

Syntéza a možnost velkokapacitní produkce nanomateriálů s sebou přinesly nejprve aplikaci těchto materiálů za účelem zlepšení vlastností cílových produktů, ale poté také řadu otázek s minimem odpovědí. Využití nanomateriálů v produktech každodenní potřeby s sebou totiž přineslo problematiku potenciální toxicity částic/částí případně uvolněných z cílových produktů. Ve snaze nalézt právě odpovědi na nadnesené otázky došlo ke vzniku nového vědního odvětví – nanotoxikologie. Přestože existuje již řadu let snaha vědců studovat nanomateriály také z toxikologické stránky, jedná se o oblast velmi komplexní. Toxikologické studie již sice byly provedeny na jednoduchých, většinou jednobuněčných organismech, ale jejich výsledky v žádném případě nemohou predikovat účinky na člověka v celé šíři. Důležitým závěrem je ale fakt, že toxicita nanomateriálů je silně závislá nejen na chemické povaze/složení nanomateriálu, na jeho povrchových vlastnostech, ale také na jeho dalších vlastnostech jako např. na tvaru částic (neboli na morfologii).³²

Obzvláště nebezpečné mohou být rozličné antibakteriální modifikace či produkty obsahující nanomateriály na bázi uhlíku, které mají zlepšovat mechanické vlastnosti konstrukčních materiálů. Antibakteriální modifikace jsou vždy spjaty s povrchem daného materiálu a je tedy nasnadě, že může docházet k tomu, že se může daný nanomateriál z povrchu uvolnit a dostat se do životního prostředí. Právě vstup do životního prostředí a osud uvolněných nanočástic se v současnosti stává velmi intenzivně studovanou a diskutovanou oblastí. U uhlíkových materiálů, kterými jsou snad nejčastěji uhlíkové nanotrubičky, se můžeme dočkat obdobného uvolňování vzhledem k mechanickému namáhání oněch konstrukčně vylepšených materiálů a jejich vstup např. do lidského organismu především dýchacími cestami. Právě tvar nanotrubiček je předurčuje k snadnému pronikání do měkkých tkání v dýchacích cestách. U nanočástic stříbra je daleko hrozivější chemický charakter, protože stříbro je prvkem, který má tzv. kumulativní charakter. Řečeno explicitně, pokud je lidský organismus soustavě vystavován vlivu tohoto kovu (např. užíváním disperze nanočástic stříbra, kterou je možné zakoupit jako doplněk stravy), chronická intoxikace se může projevit zmodráním člověk, což indikuje vznik choroby nazývané argyrie.³²

V obou výše zmíněných případech se ale v současné době jedná o pouhé spekulace a snahu nanotoxikologů o jistou obezřetnost. Člověk by opravdu neměl jen bez rozmyslu přijímat vše, co nové technologie nabízí. Už v roce 1537 pronesl Paracelsus totiž klíčovou větu toxikologie, která je velmi dobře uplatnitelná nanotoxikology: „všechny látky jsou jedy; toliko dávka je příčinou, že látka přestává být jedem“.³²

6. Laboratorní cvičení pro SŠ - Příprava nanočástic stříbra v laboratorních podmínkách

Nejlepším způsobem, jak zatraktivnit výuku chemie na středních školách je bezesporu více laboratorních cvičení, aby studenti věděli, že chemie je především experiment a ne jen biflování pouček, zákonů a rovnic. Z tohoto důvodu jsou navrženy experimenty z oblasti nanotechnologie/nanomateriálů. Jako nejvhodnější se jevila příprava nanočástic stříbra, protože vlastní syntéza je založena na dobře známém Tollensově důkazu redukčních vlastností cukrů pomocí tvorby stříbrného zrcátka tvořeného makroskopickými částicemi stříbra. Modifikací reakčních podmínek je ale možné připravit koloidní částice stříbra/nanočástice stříbra. Je ale nezbytně nutné dbát na přesné pipetování jednotlivých reakčních komponent a dodržovat pořadí jejich přidávání do reakční směsi.

Po přípravě disperze nanočástic stříbra je nutné produkt charakterizovat. Nejvhodnější by byla analýza pomocí transmisního elektronového mikroskopu. Vzhledem k tomu, že se ale jedná o velmi nákladné zařízení, určitě jím nedisponují střední školy. Přesto je ale možné alespoň částice detekovat pomocí laserového ukazovátko. Při pohledu z 90° se za přítomnosti částic objeví tzv. Tyndallův kužel. Na principu interakce částic s koherentním zdrojem záření, tedy laserem, je koneckonců založen i přístroj pracující na principu dynamického rozptylu světla. Přestože se jedná také o poměrně finančně náročný přístroj, do jisté míry jej na středních školách může zastoupit právě laserové ukazovátko. Dalším způsobem, jak je možné detekovat nanočástice stříbra je i UV/VIS spektroskopie. Spektrofotometrem disponují lépe vybavené střední školy, a proto je tento přístroj uveden i v návodu na cvičení. Vzhledem k tomu, že jsou disperze nanočástic stříbra zbarveny, podle velikosti částic, od žluté přes medovou až po šedou barvu, je možné pozorovat absorpční pík. Jsou-li v připravené disperzi skutečně nanočástice, tzn. částice ve velikostním rozsahu od 1 po 100 nm, charakteristický absorpční pík se objeví v oblasti 400 – 450 nm.

Po charakterizaci připravené disperze je možné prozkoumat její vlastnosti. Disperze nanočástic stříbra či koloidní soustavy obsahující částice vzácných kovů jsou velmi citlivé nejen na reakční podmínky, ale také na podmínky, ve kterých jsou uchovávány. Z dlouhodobého hlediska se ale jedná o systémy nestabilní. Již přidávkem minimálního množství elektrolytu dochází k destabilizaci soustavy a shlukování částic (nazýváme to agregací). Následně dochází k „vysrážení“ pevné fáze z disperze. Stabilitu těchto systémů je ale možné zvýšit přidávkem ochranných látek – např. polymerů nebo surfaktantů. Tyto látky se adsorbují na povrch částic a dokážou zabránit jejich okamžitému masivnímu shlukování. V návodu na laboratorní cvičení je uveden čisté mýdlo Jelen, které je právě oním výše zmíněným surfaktantem. Aby byl vliv tohoto stabilizátoru na částice stříbra lépe pozorovatelný, je nutné si zároveň připravit srovnávací vzorek obsahující pouze nestabilizované částice. Částice, které jsou neochráněné, budou mít tendenci se shlukovat a sedimentovat na dně kádinky/zkumavky. Částice, které byly ochráněny, budou déle odolávat účinkům elektrolytu. Nicméně po jisté době dojde i k jejich sedimentaci na dně.

Použitá laboratorní náčiní:

1. kádinky
2. pipeta (automatická nebo skleněná)
3. odměrné baňky
4. elektromagnetická míchačka + teflonem potažené míchadlo (alternativa – skleněná tyčinka)
5. laserové ukazovátko
6. přístroj pracující na principu dynamického rozptylu světla
7. UV/VIS spektrofotometr

Pracovní postup:

Syntéza vodné disperze nanočástic stříbra, pomocí kondenzační metody, je velmi citlivá na reakční podmínky (např. teplotu), koncentraci jednotlivých reakčních komponent a pořadí jejich přidavku. Z tohoto důvodu je nutné dodržet následující postup a pipetovat s co největší přesností.

Po napipetování 10 ml komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ a 5 ml H_2O umístíme reakční nádobku spolu s magnetickým míchadlem na magnetickou míchačku a intenzivně promícháváme. Za stálého míchání přidáme 5 ml NaOH o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Opět necháme promíchat a poté přidáme 5 ml D-glukózy, o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, která vyredukuje požadované nanočástice. Jejich vznik lze pozorovat změnou barvy obsahu reakční kádinky.

syntéza nanočástic stříbra:

- 10 ml $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ (obsahující AgNO_3 v koncentraci $0,0025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ a NH_3 o koncentraci $0,0125 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)
- 5 ml H_2O
- 5 ml NaOH o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$
- 5 ml D-glukóza o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

modifikace nanočástic stříbra a studium stability disperze nanočástic stříbra:

- 5ml nasyceného mýdlového roztoku (nastrouhané mýdlo Jelen – následně rozpuštěno ve vodě)
- 5 ml NaCl o koncentraci $5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

Příprava a charakterizace připravených nanočástic stříbra

1. Příprava nanočástic stříbra

2. Interakce vodné disperze nanočástic stříbra s laserovým paprskem

Působením laserového paprsku na kádinku s vodnou disperzí nanočástic stříbra dochází k _____

3. Charakterizace pomocí UV-VIS absorpční spektroskopie

Vzorek pro UV-VIS spektroskopii bylo nutné 10x zředit. Proto jsem do květy napipetoval/la _____ vodné disperze nanočástic stříbra a _____ vody. Díky existenci povrchového plazmonu bylo možné identifikovat přítomnost nanočástic pomocí absorpčního píku, jehož maximum bylo lokalizováno při vlnové délce _____ nm.

4. Modifikace nanočástic stříbra

Z připravené disperze nanočástic stříbra odebereme 5 ml a přidáme k ní 5 ml mýdlového roztoku. Obdobným způsobem připravíme srovnávací disperzi – 5 ml vodné disperze nanočástic stříbra a _____. K oběma vzorkům přidáme 5 ml NaCl (o koncentraci 5 mol.dm^{-3}) a pozorujeme vliv tohoto elektrolytu na nestabilizovanou a stabilizovanou disperzi nanočástic stříbra. Mýdlový roztok stabilizuje/nestabilizuje vodnou disperzi nanočástic stříbra. (nehodící se škrtněte)

7. **Závěr**

Nanotechnologie jsou technologie, které jsou pro generaci dnešních středoškolských studentů něčím, co přijímají především v aplikační rovině. Je totiž možné, že mají doma tenisovou raketu obsahující uhlíkové nanotrubičky, že si jejich rodiče kupují prádlo či ponožky modifikované stříbrem od olomoucké firmy Nanotrade, a že když jde jejich babička na vyšetření břišní dutiny, že jsou použity nanočástice oxidů kovů jako kontrastní látka. Ano, nejen oni, ale vlastně my všichni přicházíme do styku s nějakým nanomateriálem téměř každý den. Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně nové a navíc velmi populární odvětví vědy, které stojí na základech chemie, fyziky, biologie a vzájemného propojení těchto oborů, rozhodně by se porozumění či přiblížení alespoň některých pojmů mohlo stát součástí výuky. A proč ne zrovna výuky chemie, která by se tímto způsobem mohla více přiblížit studentům a snad se stát i maličko populárnější?

V předloženém textu mohou vyučující či jejich studenti získat informace o zajímavých materiálech, jejich vlastnostech a možnostech jejich zkoumání. Rozhodně to není ale výčet úplný, protože nanomateriálů, které jsou zajímavé, je neskutečné množství a publikace shrnující „všechny“ tyto materiály by svým rozsahem měla spíše odstrašující charakter. Z tohoto důvodu byly vybrány materiály, které mohou být mladému člověku v dnešní době poměrně blízké. Obdobným výběrem prošla i část experimentální. Bylo nutné zvolit snadnou, poměrně známou, finančně a experimentálně nenáročnou syntézu, kterou by bylo možné provést i v prostředí střední školy. Logicky tedy byla zvolena syntéza a modifikace nanočástic stříbra. Následnou charakterizaci je pak možné provést v závislosti na vybavení konkrétní středoškolské laboratoře.

8. **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu OPVK „Přírodovědec - Rozvoj odborných kompetencí talentovaných studentů středních škol ve vědecko-výzkumné práci v oblasti přírodních věd.“, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0040.

8. Použitá literatura

1. Everett, D.H., 1992. *Basic Principles of Colloid Science*. London: Royal Society of Chemistry, s. 5 – 12.
2. Evans, Fennell D., a Håkan Wennerström, 1994. *The Colloidal Domain*. New York: Wiley-Vch. s. xxv-xxvii.
3. *Nanotechnology and the Environment – Report of the National Nanotechnology Initiative Workshop* [online]. 2003 [cit. 2011-12-8]. Dostupný z WWW: <<http://pdf.edocr.com/c4cc40a08c9ee229d49ce851693c198c9ded3ebc.pdf>>.
4. Coburn, D.L., a P.D. Diognan, 1997. *The Wonders of Colloidal Silver*. Arroyo Grande: AA Micro, 7 – 10.
5. J. Gallo, I. Landor, P. Vavrik. *Current Concepts Review*. 73 (2006) 229 – 236.
6. *Nanosilver* [online]. 2011 [cit. 2011-10-9]. Dostupný z WWW: <<http://www.nanosilver.cz/>>.
7. A. Panáček, L. Kvítek, R. Prucek, M. Kolář, R. Večeřová, R. Pizúrová, V. Sharma, T. Nevěčná, R. *J. Phys. Chem. B*. 110 (2006) 16248.
8. Edwards, Steven A., 2006. *The Nanotech Pioneers: Where Are They Taking Us?*. Weinheim: Wiley-VCH. 152 - 170.
9. Edwards, Steven A., 2006. *The Nanotech Pioneers: Where Are They Taking Us?*. Weinheim: Wiley-VCH. 30 - 35.
10. Ozin, Geoffrey A., a André C. Arsenault, 2005. *Nanochemistry – A Chemical Approach to Nanomaterials*. Toronto: RSC Publishing. 233 – 235.
11. Kumar Challa S.S.R. ed., 2006. *Nanomaterials – Toxicity, Health and Environmental Issues*. Weinheim: Wiley-Vch. s. 9 - 12.
12. S. Nie, S.R. Emory. *Science*. 275 (1997) 1102.
13. Ch.L. Haynes, A.D. McFarland, R.P. Van Duyne. *Anal Chem*. 77 (2005) 338A.
14. Z-J. Jiang, Ch-Y. Liu, L-W. Sun. *J Phys Chem B*. 109 (2005) 1730.
15. C. Voisin, N. Del Fatti, D. Christofilos, F. Vallee. *J Phys Chem B*. 105 (2001) 2264.
16. R. Slistan-Grijalva, J.F. Herrera-Urbina, M. Rivas-Silva, F.F. Ávalos-Borja, A. Castellón-Barraza, Posada – Amarillas, *Physica E*. 27 (2005) 104.

17. Bulk material = materiál v makroskopické formě; klasickým příkladem tohoto materiálu je plíšek daného materiálu, kovová fólie atd.
18. F. Mafune, J. Kohno, Y. Takeda, T. Kondow, H. Sawabe. *J. Phys. Chem. B.* 104 (2000) 9111.
19. C. Tai, Y. Wang, H. Liu. *AIChE J.* 54 (2008) 445.
20. L. Kvítek, R. Prucek, A. Panáček, R. Novotný, J. Hrbáč, R. Zbořil R. *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 1099.
21. D.L. Van Hying, C.F. Zukoski. *Langmuir.* 14 (1998) 7034.
22. ¹J.P. Cason, K. Khambaswadkar, C.B. Roberts. *Ind. Eng. Chem. Res.* 39 (2000) 4749.
23. X. Li, J. Zhang, W. Xu, H. Jia, X. Wang, B. Yang, B. Zhao, B. Li, Y. Ozaki. *Langmuir.* 19 (2003) 4285.
24. Z.S. Pillai, P.V. Kamat. *J. Phys Chem. B.* 108 (2004) 945.
25. E.D. Evanoff, J. Chumanov. *J. Phys. Chem. B.* 108 (2004) 13948.
26. N. Leopold, B. Lendl. *J. Phys. Chem. B.* 107 (2003) 5723.
27. H.H. Nersisyan, J.H. Lee, H.T. Son, C.W. Won, D.Y. Maeng. *Mater. Res. Bull.* 38 (2003) 949.
28. D. Yu, V. Yam. *J. Phys. Chem B.* 109 (2005) 5497.
29. *Samsung Silver Nano* [online]. 2008 [cit. 2011-10-9]. Dostupný z WWW: <<http://www.samsung.com/au/silvernano/site.html>>.
30. A. Slistan-Grijalva, R. Herrera-Urbina, J.F. Rovas-Silva, M. Ávalos-Borja, F.F. Castullón-Barraza, A. Posada-Amarillas. *Physica E.* 27 (2005) 104.
31. B.J. Wiley, S.H. Im, Z. Li, J. McLellan, A. Siekkinen, Y. Xia. *J. Phys. Chem. B.* 110 (2006) 15668.
32. Kumar Challa S.S.R. ed., 2006. *Nanomaterials – Toxicity, Health and Environmental Issues*. Weinheim: Wiley-Vch. s. 35 – 72.

RNDr. Pavlína Baizová, Ph.D.
RNDr. Lucie Brulíková, Ph.D.
Mgr. Pavlína Ginterová
prof. RNDr. Jiří Kameníček, CSc.
doc. RNDr. Marta Klečková, CSc.
doc. RNDr. Taťjana Nevěčná, CSc.
Mgr. Eva Schütznerová
RNDr. Jana Soukupová, Ph.D.
doc. RNDr. Ludmila Zajoncová, Ph.D.

Vybrané kapitoly z chemie (nejen pro střední školy)

Určeno pro středoškolské studenty

Výkonný redaktor prof. RNDr. Tomáš Opatrný, Dr.
Odpovědná redaktorka Mgr. Jana Kreiselová
Technická redakce autoři
Návrh obálky Jiří Jurečka

Tato publikace neprošla redakční jazykovou úpravou.

Vydala a vytiskla Univerzita Palackého v Olomouci
Křížkovského 8, 771 47 Olomouc
www.vydavatelstvi.upol.cz
e-mail: vup@upol.cz

Olomouc 2012

1. vydání

Ediční řada – Skripta
čz 2012/086

ISBN 978-80-244-3013-3

Neprodejné